

Aus dem Institut und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Universität Erlangen—Nürnberg
Direktor: Professor Dr. F. Wolf

Untersuchungen zur Brauchbarkeit von
 ^{131}J -Toluidinblau und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida
in der nuklearmedizinischen
Leber/Gallenwegsdiagnostik

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Norbert A. Ruß
aus Bamberg

Aus dem Institut und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr.F.Wolf

Untersuchungen zur Brauchbarkeit von ^{131}J -Toluidinblau
und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida in der nuklearmedizinischen
Leber/Gallenwegsdiagnostik

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Norbert A.Ruß
aus Bamberg

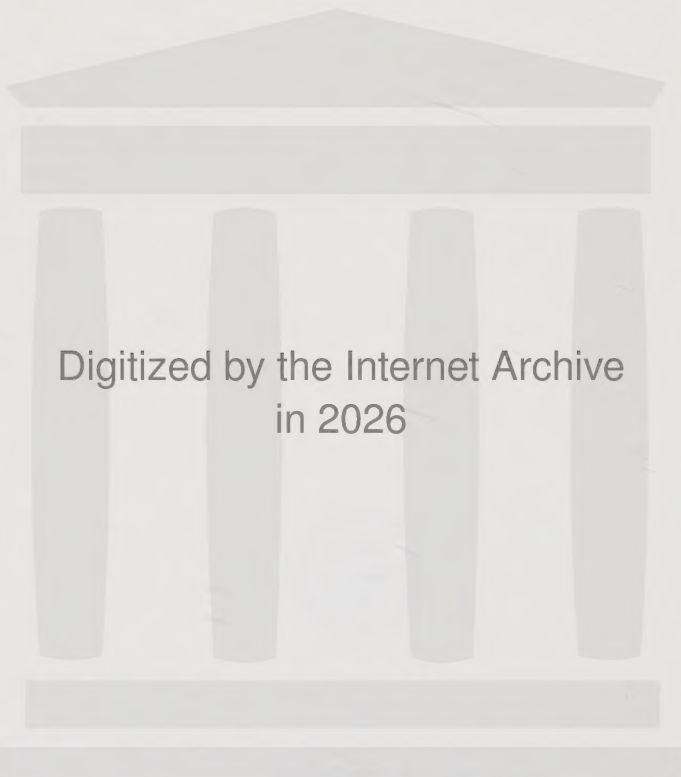


Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. F. Wolf

Tag der mündlichen Prüfung: 31.05.1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

2. Einleitung und Zusammenfassung

11. Einleitung und abschließende Bemerkungen zum
wissenschaftlichen Fortschritt und Bedeutung

- a. Zusammenfassung
- b. 1. Einleitung
- c. 2. Einleitung
- d. 3. Einleitung
- e. 4. Einleitung
- f. 5. Einleitung
- g. 6. Einleitung
- h. 7. Einleitung
- i. 8. Einleitung
- j. 9. Einleitung
- k. 10. Einleitung
- l. 11. Einleitung
- m. 12. Einleitung
- n. 13. Einleitung
- o. 14. Einleitung
- p. 15. Einleitung
- q. 16. Einleitung
- r. 17. Einleitung
- s. 18. Einleitung
- t. 19. Einleitung
- u. 20. Einleitung
- v. 21. Einleitung
- w. 22. Einleitung
- x. 23. Einleitung
- y. 24. Einleitung
- z. 25. Einleitung

MEINEN ELTERN

12. Einleitung und abschließende Bemerkungen zum
wissenschaftlichen Fortschritt und Bedeutung

- a. Zusammenfassung
- b. 1. Einleitung
- c. 2. Einleitung
- d. 3. Einleitung
- e. 4. Einleitung
- f. 5. Einleitung
- g. 6. Einleitung
- h. 7. Einleitung
- i. 8. Einleitung
- j. 9. Einleitung
- k. 10. Einleitung
- l. 11. Einleitung
- m. 12. Einleitung
- n. 13. Einleitung
- o. 14. Einleitung
- p. 15. Einleitung
- q. 16. Einleitung
- r. 17. Einleitung
- s. 18. Einleitung
- t. 19. Einleitung
- u. 20. Einleitung
- v. 21. Einleitung
- w. 22. Einleitung
- x. 23. Einleitung
- y. 24. Einleitung
- z. 25. Einleitung

13. Einleitung und abschließende Bemerkungen zum
wissenschaftlichen Fortschritt und Bedeutung

- a. Zusammenfassung
- b. 1. Einleitung
- c. 2. Einleitung
- d. 3. Einleitung
- e. 4. Einleitung
- f. 5. Einleitung
- g. 6. Einleitung
- h. 7. Einleitung
- i. 8. Einleitung
- j. 9. Einleitung
- k. 10. Einleitung
- l. 11. Einleitung
- m. 12. Einleitung
- n. 13. Einleitung
- o. 14. Einleitung
- p. 15. Einleitung
- q. 16. Einleitung
- r. 17. Einleitung
- s. 18. Einleitung
- t. 19. Einleitung
- u. 20. Einleitung
- v. 21. Einleitung
- w. 22. Einleitung
- x. 23. Einleitung
- y. 24. Einleitung
- z. 25. Einleitung

14. Einleitung und abschließende Bemerkungen zum
wissenschaftlichen Fortschritt und Bedeutung

15. Einleitung und abschließende Bemerkungen zum
wissenschaftlichen Fortschritt und Bedeutung

16. Einleitung und abschließende Bemerkungen zum
wissenschaftlichen Fortschritt und Bedeutung

17. Einleitung und abschließende Bemerkungen zum
wissenschaftlichen Fortschritt und Bedeutung

I.	Einleitung und Aufgabenstellung	1
II.	Substanzen und chromatographische Prüfung der radiochemischen Reinheit und Stabilität	3
	A. Substanzen	3
	1. ^{131}J -Toluidinblau	
	2. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida	
	B. Chromatographie	4
	1. ^{131}J -Toluidinblau	
	2. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida	
III.	Elektrophoretische Untersuchungen zum Eiweiß-Bindungsverhalten der beiden Substanzen	21
	A. Methode und Auswertung	21
	B. In vitro-Bindung an Albumin:	22
	1. Elektrophorese nach in vitro-Inkubation mit ^{131}J -Toluidinblau	
	2. Elektrophorese nach in vitro-Inkubation mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida	
	C. Serumelektrophoresen zum in vivo-Bindungsverhalten	28
	1. Die Elektrophorese bei Patienten nach ^{131}J -Toluidinblau-Injektion	
	2. Die Elektrophorese bei Patientin nach $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida-Injektion	
IV.	Sequenzszintigraphische und kinetische Beobachtungen am Patienten	34
	A. Methodik	34
	B. Untersuchungen mit ^{131}J -Toluidinblau	36
	C. Untersuchungen mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida	37
V.	Diskussion	42
VI.	Zusammenfassung	47
VII.	Literaturverzeichnis	49
VIII.	Anhang	56

I. Einleitung und Aufgabenstellung

Radioaktiv markierte polygonalzellpflichtige Substanzen erlauben in der Leber/Gallenwegs-Diagnostik sowohl morphologische Darstellungen als auch Aussagen über die Funktion der Leber. Dabei werden im Falle hinreichend kurzer Durchsatzzeiten und hoher Umsatzraten auch die nachgeschalteten ableitenden Gallenwege und die Gallenblase wie der Dünndarm innerhalb praktikabler Untersuchungszeiten beurteilbar. Die geringen Substanzmengen und die weitgehende Unabhängigkeit vom Serumbilirubinspiegel erlauben auch unter pathologischen Bedingungen für den Patienten eine breite Indikationsstellung.

Die anfangs zur Diagnostik genutzten Substanzen, wie ^{131}J -Bengalrosa oder ^{131}J -Bromsulfan ließen eine Weiter- und Fortentwicklung wünschenswert erscheinen. Die Bemühungen zielten auf die Senkung der Strahlenbelastung einerseits durch kürzere Verweildauer der applizierten Substanzen im menschlichen Organismus, andererseits durch die Verwendung kurzlebiger Nuklide zur Markierung. Besonderer Wert wurde weiter auf die Entwicklung solcher Substanzen gelegt, mit denen auch bei bestehendem Ikterus und bei Parenchymschäden der Leber noch eine Exkretion zu erzielen ist.

In den Jahren seit 1974 erschienen zahlreiche Untersuchungen, die sich mit möglichen geeigneten Substanzen experi-

mentell befaßten. So wurde ^{99m}Tc -Pyridoxilidenglutamat (3, 37, 41), ^{99m}Tc -Tetracyclin (20), ^{99m}Tc -Sn-LIDA (41), ^{99m}Tc -Pyridoxal-Leucin (39), und andere vorgestellt (2, 52, 62).

^{131}J -Toluidinblau wurde erstmals von CZERNIAK 1972 eingesetzt und von EICKENBUSCH und Mitarbeitern klinisch in weiteren Umfang erprobt.

^{99m}Tc -Bida wurde 1975 von LOBERG et al. vorgestellt. Das Ziel dieser Arbeit war, für die beiden letztgenannten Substanzen orientierende Daten hinsichtlich

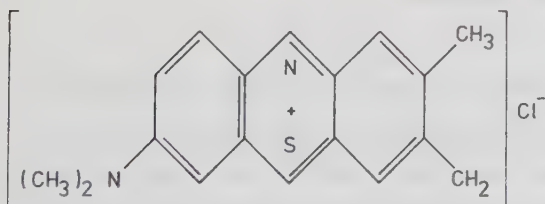
1. der radiochemischen Reinheit und Stabilität
2. des Serumprotein-Bindungsverhaltens
3. der kinetischen Verhältnisse in vivo und damit der Anwendbarkeit in der klinischen Funktionsdiagnostik zu gewinnen.

II. Substanzen und chromatographische Prüfung der radiochemischen Reinheit und Stabilität

A. Substanzen

1. Toluidinblau wird für histologische Zwecke schon seit langem gebraucht. Nuklearmedizinisch fand es Anwendung zur Markierung myokardialer Infarktgebiete (16), bei der präoperativen Lokalisation des Insulinoms (43) und zur Darstellung der Epithelkörperchen (6,26). Die Markierung des Toluidin erfolgt, indem aus Natriumjodid (^{131}J) freies Jod hergestellt und dieses mit dem Farbstoff zur Reaktion gebracht wird. Dabei entstehen verschiedene Jodierungsprodukte. Freie ^{131}J -Jodidanteile werden über einen Amberlit-Anionenaustauscher entfernt.⁺

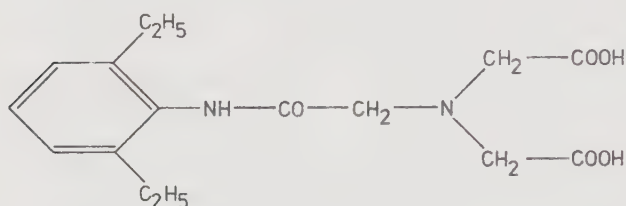
Ein ähnliches Verfahren beschreibt CZERNIAK 1972 (15). Alle entstehenden Jodierungsprodukte des ^{131}J -Toluidinblau, unabhängig davon ob 1, 2 oder 3 Jodatome mit einem Molekül Toluidinblau verbunden sind, wurden als einheitliches Markierungsprodukt betrachtet.



Strukturformel des Toluidinblaus:

⁺Dank des Entwicklungslabors von Amersham Buchler GmbH, Braunschweig standen 1976 begrenzte Prüfkargen zur Verfügung

2. Bida ist als lyophilisierte Substanz pyrogenfrei und steril im Handel ⁺⁺. Die Markierung erfolgt vor Gebrauch durch das Zufügen einer sterilen Lösung von ^{99m}Tc-Pertechnetat. Bida wird durch Schütteln leicht in Lösung gebracht. Eine Reinigung der markierten Verbindung erübrigt sich. Erforderlichenfalls kann das Markierungsprodukt durch einen Mikrofilter mit 0,22 µ Porenweite steril filtriert werden.



Strukturformel von Bida

(Sn- 2,6 Diäthylacetanilidoiminodiacetat)

B. Chromatographie

Durch die Chromatographie läßt sich die radiochemische Reinheit und Stabilität der Substanzen überprüfen. Dabei geht es vor allem um die Homogenität der Chargen und das Frei- sein von markierten Derivaten.

Methode: Die im aufsteigenden eindimensionalen Verfahren (28) gewonnenen Papierchromatogramme (Whatman No 1 Paper) werden nach dem Trocknen in 0,5 bzw. 1 cm breite Streifen senkrecht zur Fließrichtung zerschnitten und einzeln im Bohrlochkristall auf ihre Impulsrate ausgemessen. Diese Impulsraten werden in Prozent der Gesamtimpulse des Chromatogramms ausgedrückt und in einem Diagramm gegen die Fließ-

strecke aufgetragen (Aktivitätsprofil des Chromatogrammes).

1. ^{131}J -Toluidinblau: Ziel der chromatographischen Prüfung der markierten Chargen ist, eventuell freies Jodid und mögliche, markierte Spaltprodukte des ^{131}J -Toluidinblau auszuschließen und das gleichartige radiochemische Verhalten der Toluidinblau-Markierungsprodukte aufzuzeigen. Als Fließmittel findet n- Butanol/Eisessig/Wasser im Verhältnis 60:25:25 Verwendung. Folgende Ergebnisse wurden aus 10 ^{131}J -Toluidinblau-Chromatogrammen errechnet.

Ergebnisse: Die Chromatogramme des ^{131}J -Toluidinblau erbringen je nach Fließstrecke einen unterschiedlich großen, längsovalen Farbfleck, der sich in einen stark blauen Kern, ein leichtblaues Vorfeld und eine schwach gefärbte Nachhut einteilen läßt. Das Aktivitätsprofil des Chromatogrammes steigt über dem Toluidinblaufleck zu einer steilen Kurve an und fällt in gleicher Weise gegen die Fließgrenze des Farbfleckes, die äußerste Grenze des Vorfeldes. Das Maximum des Aktivitätsprofils entspricht dem Kern des starkblauen ^{131}J -Toluidinblaufleckes. Es liegt im Durchschnitt bei $73 \pm 7\%$ der Fließstrecke von der Auftragsstelle aus gerechnet. Der Farbfleck ist mit Einbeziehung aller, auch der schwach gefärbten Randbezirke mit 30 % Anteil an der Fließstrecke relativ groß. Jedoch konzentrieren sich 80 % der Aktivität (das entspricht etwa 72 % der Gesamtaktivität des Chromatogrammes) auf weniger als einem Drittel des gesamten ^{131}J -Toluidinblaufleckes.

An der Auftragsstelle bleibt zuweilen etwas ^{131}J -Toluidinblau liegen und erzeugt hier eine unbedeutende Aktivitäts-häufung (nicht über 3 %).

Aus dem Aktivitätsprofil sind keine weiteren Fraktionen zu erkennen, die für die Abspaltung von Jod als Jodid oder die Anwesenheit von markierten Toluidinblauerivaten sprächen.

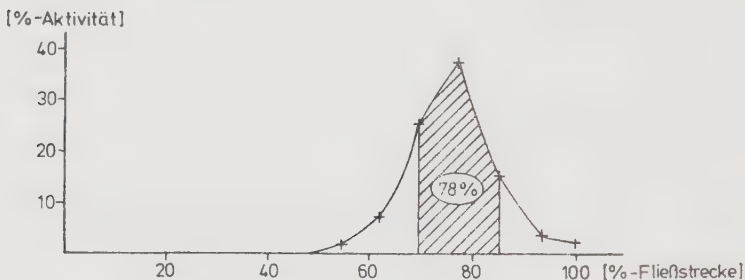


Abb. 1: Aktivitätsprofil einer ^{131}J -Toluidinblau-Chromatographie. Ordinate: Prozent-Aktivität (bezogen auf die Gesamtpulszahl des Chromatogrammes), Abszisse: Fließstrecke in Prozent vom Start aus.

2. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida

Bei Bida werden die Chargen erst vor Gebrauch markiert.

Dementsprechend verfolgt die Chromatographie drei Ziele:

- die Prüfung der zeitlichen Stabilität des Markierungsproduktes,
- die Homogenität des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida. (= $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -B.) bzw. den Nachweis eventueller markierter Derivate zu erbringen,
- die Streuung der Markierungsausbeute der verschiedenen Chargen nachzuweisen.

Die Chromatographie erfolgt 15 Minuten, 2, 4 und 6 Stunden nach dem Zusatz des ^{99m}Tc -Pertechnetat.

Als Fließmittel dienen:

- a) EDTA-Pufferlösung (0,1 M Na_2 -EDTA, 0,1 M $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$, 0,05 M Na_2HPO_4 in aqua dest. bei pH 5,75),
- b) physiologische Kochsalzlösung (1000 ml) gemischt mit n-Butanol (50 ml).

Die Butanolsalzlösung ist ein wenig polares Fließmittel, in dem sich das hydrophobe ^{99m}Tc -B. gut löst. Im EDTA-Puffer dagegen mit seinem pH im saueren Bereich zeigt das ^{99m}Tc -B. eine geringere Dissoziationsneigung. Die Löslichkeit ist geringer. Dementsprechend verhalten sich die Fließweiten des ^{99m}Tc -Bida in den Chromatogrammen. In der Butanolsalzlösung wandert das ^{99m}Tc -Bida in der Fließmittelfront, bei der Puffermischung kommt es nach der Mitte des Chromatogrammes zu liegen. Die Vorteile der Butanolsalzlösung liegen in der scharfen, eng begrenzten Auftrennung. Sowohl für die ^{99m}Tc -Pertechnetatlösung ergibt sich ein scharf begrenztes Maximum im Aktivitätsprofil, wie auch für das ^{99m}Tc -B., das in einem exakt begrenzten Streifen von einem Zentimeter Breite direkt an der Fließgrenze zu liegen kommt. Die Pufferlösung bringt ein breiteres ^{99m}Tc -B.-Maximum. Das Unterscheiden der einzelnen markierten Spaltprodukte nach 2, 4 und 6 Stunden ist hierbei leichter möglich, da sie durch ihr verschiedenes Löslichkeitsverhalten in der Pufferlösung ausreichend weit voneinander zu liegen kommen.

Ergebnisse: Die Fließweite für ^{99m}Tc -Pertechnetatlösung liegt mit ihrem Maximum bei der Verwendung von Pufferlösung bei Streifen 12, bei der Butanolsalzlösung als Fließmittel bei Streifen 19 (Abb. 2).

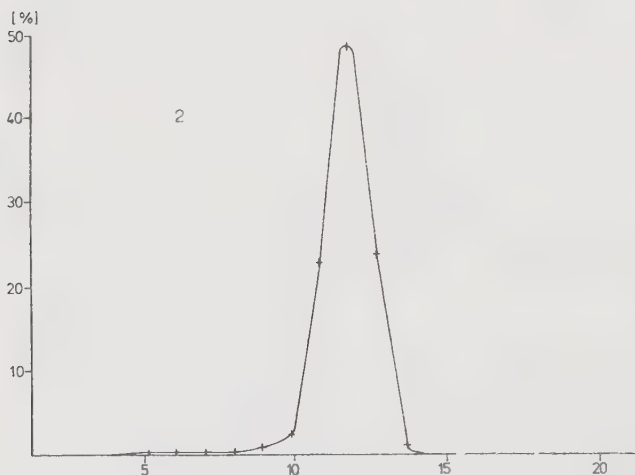
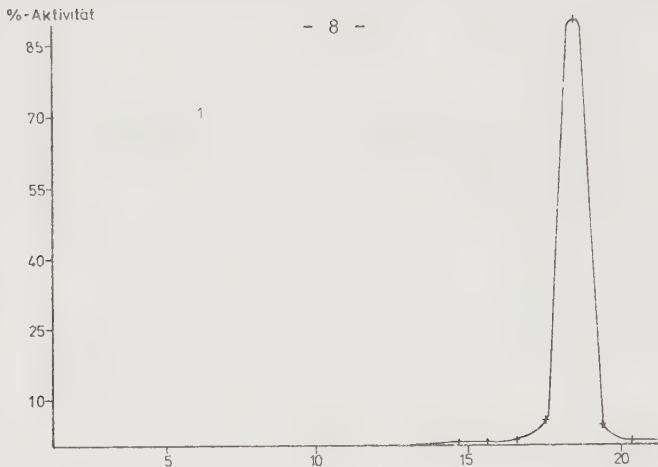


Abb. 2: Aktivitätsprofile von ^{99m}Tc -Pertechnetatlösung:

1. bei Verwendung von Butanolsalzlösung,
2. mit Pufferlösung als Fließmittel.

Bei diesem und allen folgenden Aktivitätsprofilen von ^{99m}Tc -Bida-Chromatogrammen steht der Wert 22 für den 1. Streifen jenseits der Fließgrenze.

^{99m}Tc -Bida zeigt bei der Chromatographie in Pufferlösung sein Maximum bei Streifen 16/17. Am eindeutigsten ist dieses Maximum 2 Stunden nach der Markierung auszumachen. Nach vier Stunden deutet sich bei 12 ein weiterer Gipfel an, der nach 6 Stunden an dieser Stelle sicher abzugrenzen ist, und der Lage nach der ^{99m}Tc -Pertechnetatlösung entspricht (Abb. 3).

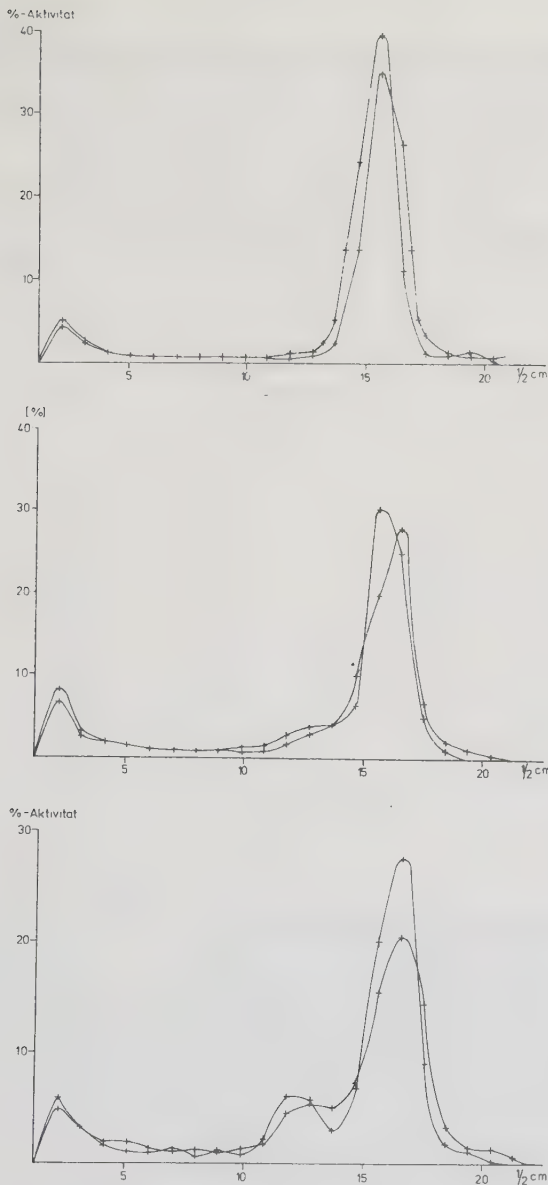


Abb. 3: Aktivitätsprofile von $^{99m}\text{Tc-B.}$ -Chromatogrammen bei Verwendung von Puffergemisch als Fließmittel.
 1.: 2 Stunden, 2.: 4 Stunden, 3.: 6 Stunden nach der Markierung.
 Die doppelte Kurve steht für jeweils zwei Kontroll-Chromatogramme derselben Charge (Charge vom 22.9.77).

Bei der Verwendung von Butanolsalzlösung liegt das Maximum für $^{99m}\text{Tc-BiGa}$ bei Streifen 21, der zugleich der Fließgrenze des Lösungsmittels entspricht. Es ist so nicht immer leicht vom Maximum des $^{99m}\text{Tc-Per technetät}$ zu trennen, das sich bei Streifen 19 befindet (Abb. 4, vergl. auch Abb. 2).

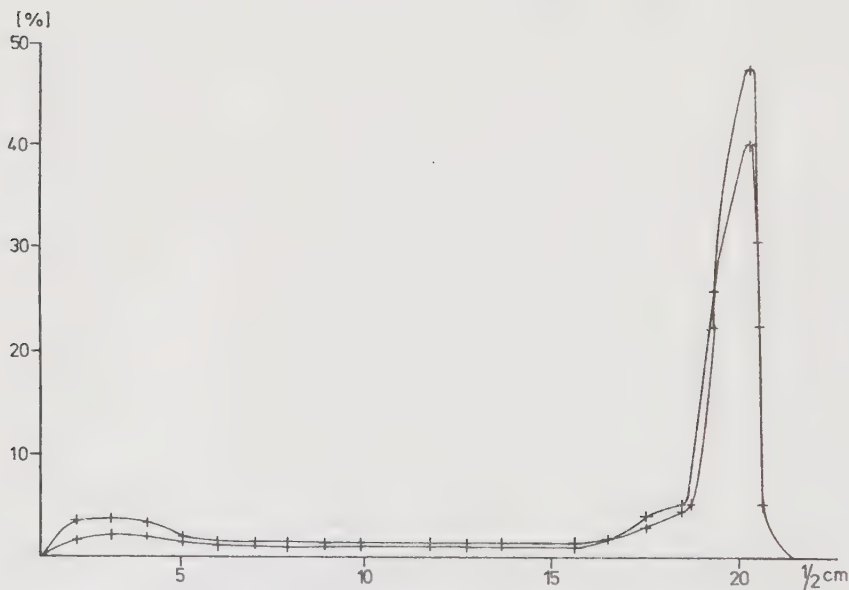


Abb. 4: Aktivitätsprofile zweier $^{99m}\text{Tc-B}$ -Chromatogramme derselben Charge zwei Stunden nach der Markierung bei der Verwendung von Butanolsalzlösung als Fließmittel.

Bei noch unvollständiger Markierungsreaktion nach 15 Minuten verschiebt sich das ^{99m}Tc -Bida-Maximum des Chromatogrammes zum Streifen 20 unter Benutzung von Butanolsalzlösung als Fließmittel. Bei Pufferlösung läßt sich in einem solchen Fall ein treppenweiser Kurvenanstieg ausmachen, mit einer zusätzlichen Aktivitätshäufung in den Streifen 12/13, also an der Stelle, an der erwartungsgemäß freies ^{99m}Tc -Pertech-netat zu liegen kommen muß (Abb. 5 und 6).

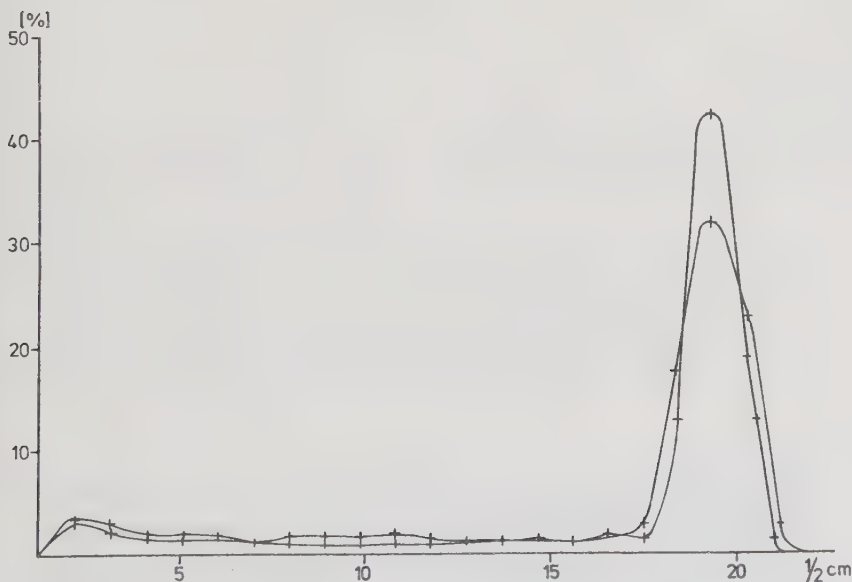


Abb. 5: Aktivitätsprofile zweier ^{99m}Tc -Bida-Chromatogramme derselben Charge bei unvollständiger Markierungsreaktion. Das Maximum verschiebt sich auf den Streifen 20. Dies ist durch die Überlagerung der beiden Maxima einmal des ^{99m}Tc -Bida und zum zweiten des ^{99m}Tc -Pertech-netat bedingt. Verwendung von Butanolsalzlösung als Fließmittel.

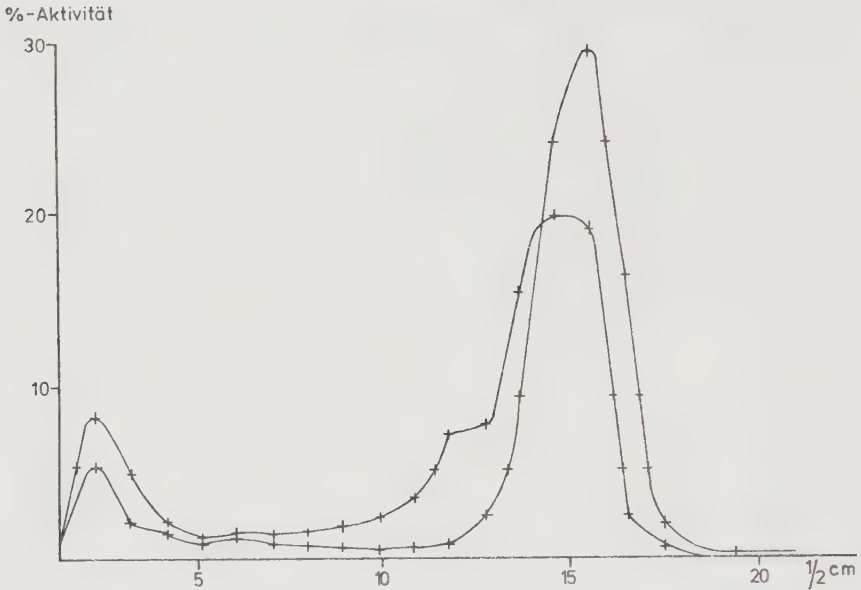


Abb. 6: Aktivitätsprofile zweier ^{99m}Tc -Bida-Chromatogramme derselben Charge bei unvollständiger Markierungsreaktion 15 Minuten nach Zusatz des Pertechnetat. Die Chromatographie erfolgte hier mit Pufferlösung.

Allerdings kann auch nach 7 Minuten unter Umständen eine vollständige Markierung erzielt werden. Das weist auf eine unterschiedliche Geschwindigkeit der Markierungsreaktion der verschiedenen Chargen hin (eventuell bedingt durch verschiedene Temperaturen, spezifische Volumenaktivitäten etc.) (Abb. 7).

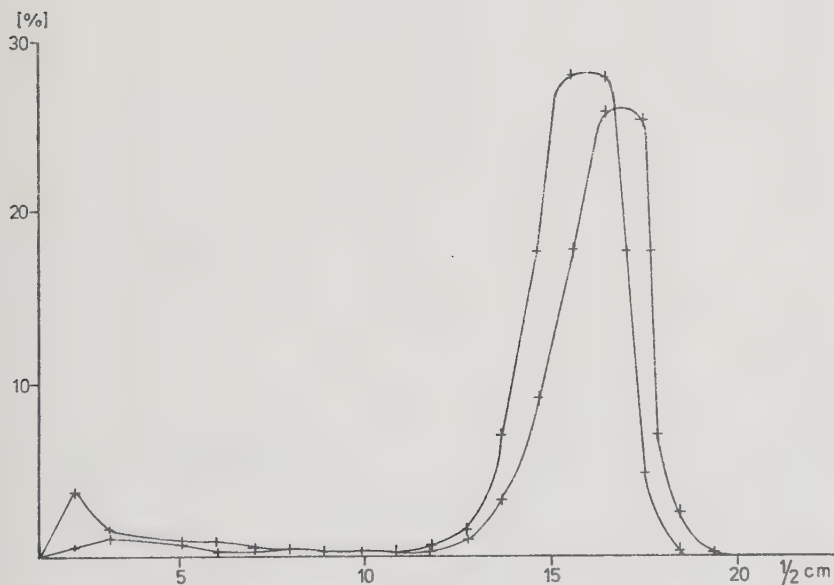


Abb. 7: Aktivitätsprofile für zwei ^{99m}Tc -Bida-Chromatogramme bei vollständiger Markierung nach 7 Minuten.
Fließmittel: Pufferlösung.

Werden Chargen 4 und 6 Stunden nach der Markierung chromatographiert, weisen sie in Butanolsalzlösung vielfach bei Streifen 18 einen weiteren zusätzlichen Gipfel auf, der für die zunehmende Instabilität der Verbindung spricht (Abb. 8).

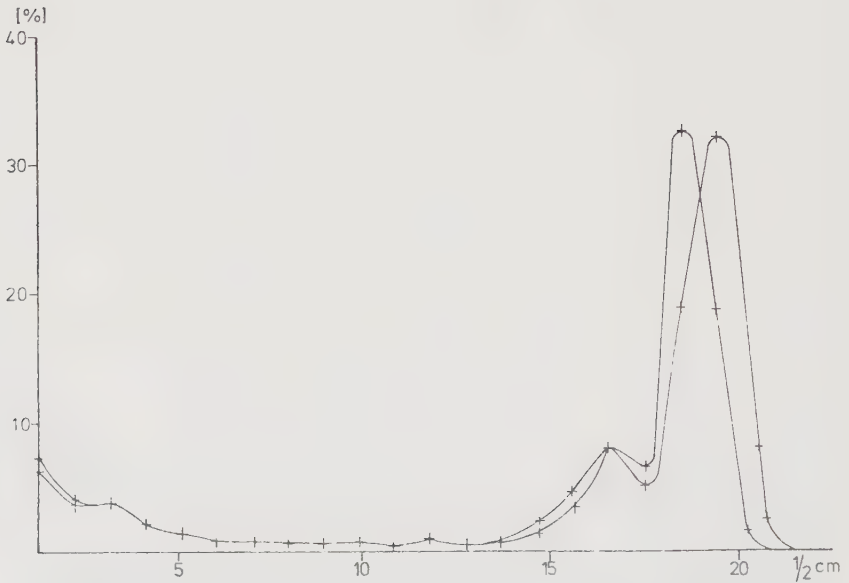


Abb. 8: Aktivitätsprofile von 2 Chromatogrammen derselben Charge (23.9.77) 6 Stunden nach der Markierung.
Fließmittel: Butanolsalzlösung.

Verbreiterung und Mehrgipflichkeit stehen für die zunehmende Inhomogenität der Substanz bzw. den Zerfall des Markierungsproduktes und die Entstehung markierter Derivate (Abb. 9).

Die folgenden genannten Mittelwerte wurden an 5 Chargen ermittelt, die zu den bereits oben erwähnten 4 verschiedenen Zeitpunkten chromatographiert wurden und zwar jeweils doppelt, in beiden Fließmitteln parallel, als Kontroll-Chromatogramme.

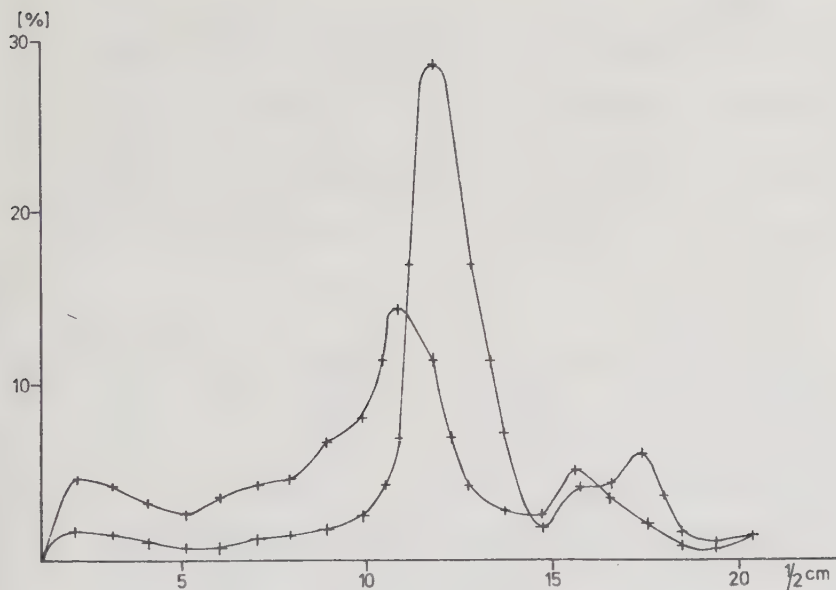


Abb. 9: Aktivitätsprofile zweier Chromatogramme derselben Charge 24 Stunden nach der Markierung.
Fließmittel: Pufferlösung.

Für diese qualitative und quantitative Auswertung werden die Maxima der Aktivitätsprofile dem markierten Bida gleichgesetzt. Für die Chromatogramme mit Pufferlösung als Fließmittel wird das Maximum aus der Summe der Impulse der Streifen 13-17 des Chromatogrammes errechnet. Dieser Wert wird anschließend in Prozent der Gesamtimpulse des jeweiligen Chromatogrammes ausgedrückt, um unabhängig von der aufgetragenen Aktivität die verschiedenen Chromatogramme untereinander vergleichen zu können. Bei der Verwendung von Butanolsalzlösung wird analog verfahren. Zur Errechnung des Bida-Maximum werden hier die Streifen an der Fließgrenze herangezogen.

Zwei Stunden nach der Markierung sind durchschnittlich $77 \pm 5,1$ % der Gesamtpulse eines Chromatogrammes mit Pufferlösung als Fließmittel im ^{99m}Tc -Bida-Maximum lokalisiert. Außer dem geringen Rest, der stets am Start nachzuweisen ist, findet sich zu dieser Zeit keine weitere markierte Fraktion. Die Substanz ist demzufolge frei von ungebundenem ^{99m}Tc -Per-technetat und möglichen ^{99m}Tc -Bida-Derivaten.

15 Minuten nach der Markierung liegt das durchschnittliche ^{99m}Tc -Bida-Maximum noch 5 % unter dem obigen Wert. Nach 4 Stunden werden nur noch ca. 4 % unter dem 15-Minuten-Wert erreicht und nach 6 Stunden liegt er nochmals 6 % niedriger. Die größte Ausbeute an ^{99m}Tc -Bida wird also 2 Stunden nach der Markierung erzielt. Für die Butanolsalzlösung werden ähnliche Werte erzielt (vergl. Abb. 10-12). Das trifft auch für die folgenden Ausführungen zu (Abb. 10).

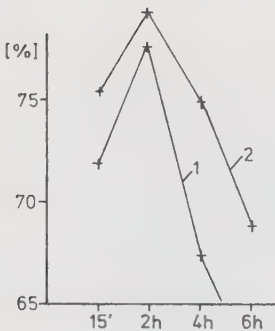


Abb. 10: Durchschnittlicher Prozentanteil der Peak-Fläche der ^{99m}Tc -Bida-Maxima von den Aktivitätsprofilen der Chromatogramme in Abhängigkeit von der Zeit nach der Markierung. Kurve 1 steht für die Pufferlösung als Fließmittel, Kurve 2 für die Butanolsalzlösung.

Ebenso wie die Homogenität des ^{99m}Tc -Bida mit der Zeit abnimmt, nehmen die durchschnittlichen Streubreiten der ^{99m}Tc -Bida-Maxima der gleichen Charge in Kontrollchromatogrammen zu, von etwa 3 % bei 15 Minuten bis 4 Stunden auf 13 % bei 6 Stunden. Das einheitliche chromatographische Verhalten geht verloren (Abb. 11).

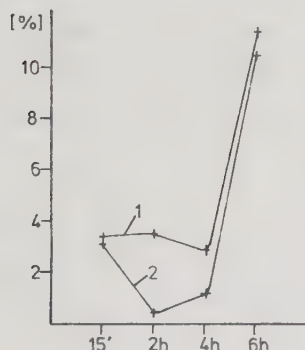


Abb. 11: Durchschnittliche Abweichung der ^{99m}Tc -B.-Maxima derselben Chargen in Abhängigkeit von der Zeit nach der Markierung.

- 1 Pufferlösung als Fließmittel
- 2 Butanolsalzlösung.

Die verschiedenen Chargen haben unterschiedliche Maxima (in Prozentanteil der Peak-Flächen), die für das ^{99m}Tc -Bida stehen. Das heißt, daß die Markierungsausbeute von Präparation zu Präparation schwankt. Aber auch hier besteht zusätzliche eine deutliche Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach der Markierung. So differieren die ^{99m}Tc -Bida-Maxima bei 2 Stunden nach der Markierung um höchstens 15 %, um 33 % allerdings nach 6 Stunden. Das

spricht zum einen für ein erheblich unterschiedliches Markierungsverhalten der einzelnen Chargen und zum weiteren auch für den zunehmenden Verfall des Markierungsproduktes mit der Zeit. Durch die Ungenauigkeit der Papierchromatographie allein können diese Werte nicht bedingt sein, da die Streuung der Maxima einer Charge bei Kontrollchromatogrammen bei 15 Minuten, 2 und 4 Stunden nach der Markierung nur bei etwa 3 % liegt. Es muß sich also um eine Substanzeigenschaft handeln.

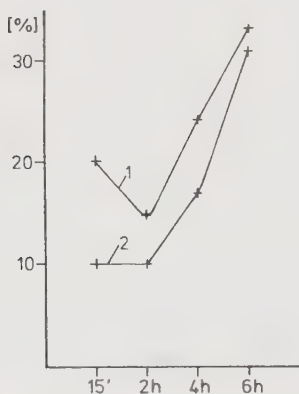


Abb. 12: Größte Streubreite der $^{99m}\text{Tc-B.}$ Maxima verschiedener Chargen in Abhängigkeit von der Zeit nach der Markierung.

1: Pufferlösung

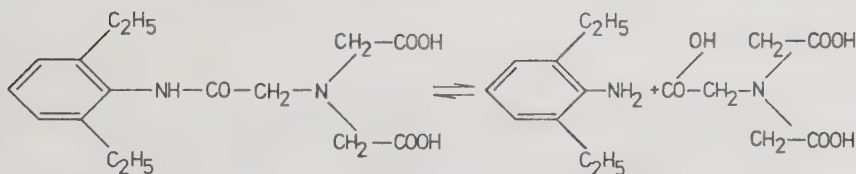
2: Butanolsalzlösung als Fließmittel.

Das $^{99m}\text{Tc-B.}$ zeigt also große Spannweiten des Markierungsproduktes, sowohl einzelner Chargen zueinander als auch für die Zeitdauer nach der Markierung. Bis zu 2 Stunden nimmt die Ausbeute des Markierungsproduktes zu, um nach der 4. Stunde steil abzufallen. Nach 4 Stunden ist die Verwen-

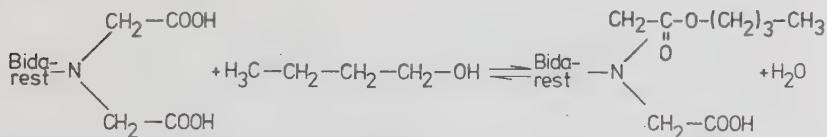
dungsfähigkeit, bedingt durch die Neuentstehung weiterer, markierter Fraktionen, sicher eingeschränkt. Bei späterer Verwendung muß mit störenden Aktivitätsanreicherungen in anderen Organen außer der Leber bzw. mit Erhöhung der Untergrundaktivität, bedingt durch diese Inhomogenitäten, gerechnet werden.

Es sei kurz noch auf mögliche Reaktionen der Fließmittel mit dem Bida eingegangen:

Als Reaktion des ^{99m}Tc-B. mit den beiden Fließmitteln kommt eine Spaltung der Peptidbindung in Frage:



Für die Butanolsalzlösung ist eine Veresterungsreaktion mit den Säureresten denkbar:



Diese Reaktionsprodukte müßten in allen Chromatogrammen zu jedem Zeitpunkt nach der Markierung an der gleichen Stelle zu finden sein. Da dies mit Sicherheit bei den Chromatogrammen nach 15 Minuten und 2 Stunden nach der Markierung verneint werden kann, - es sind keine zusätzlichen Aktivitätshäufungen nachzuweisen, die für sie stehen würden -, so muß das auch für die späteren Chromatogramme mit ihrer unterschiedlichen Aktivitätsverteilung zutreffen. Geringe Reaktionsprodukte (unter 1 %) können natürlich in dem schmalen Bereich der Untergrundaktivität versteckt sein. Weiter ist eine vermehrte Reaktion der ^{99m}Tc -Bida-Zerfallsprodukte mit den Fließmitteln nicht auszuschließen.

Abschließend kann festgehalten werden, daß die Fließmittel bei der Chromatographie kaum Einfluß auf die Stabilität des ^{99m}Tc -Bida nehmen.

Zusammenfassung: ^{131}J -Toluidinblau präsentiert sich bei den vorliegenden Untersuchungen als radiochemisch einheitliche Verbindung. Freies Jodid oder markierte Derivate des ^{131}J -Toluidinblau sind papierchromatographisch nicht nachzuweisen. ^{99m}Tc -Bida ist 15-30 Minuten nach der Markierung und höchstens 4 Stunden danach als ausreichend stabiles Radiopharmakon diagnostisch zu verwenden. Bei früherem Gebrauch als 15 Minuten muß mit einer noch unvollständigen Markierungsreaktion gerechnet werden, nach 4 Stunden ist der Zerfall des Markierungsproduktes und das Entstehen von Derivaten zu berücksichtigen.

III. Elektrophoretische Untersuchungen zum Eiweiß-Bindungsverhalten der beiden Substanzen

Die Serumproteine stellen im Blut das wichtigste Transportmedium dar. Insbesondere fällt den Albuminen eine führende Rolle zu. Die orientierende Prüfung des Protein-Bindungsverhaltens erstreckt sich einmal auf das in vitro-Verhalten der Substanzen bei Inkubation mit Albumin, zum anderen auf die Reaktionen mit Serumproteinen nach Injektion. Die Untersuchungen erfolgen mit der Elektrophorese.

A. Methode und Auswertung

Albumin⁺ wird zur Untersuchung des in vitro-Bindungsverhaltens eine Stunde bei Raumtemperatur mit ¹³¹J-Toluidinblau bzw. ^{99m}Tc-Bida inkubiert und anschließend auf einem mit Agar⁺⁺ beschichteten Objektträger getrennt. Die Elektrophorese erfolgt für 50×10^{-6} l inkubiertes Albumin bei einer Gleichspannung von 200 Volt und 80 mA für eine Laufzeit von 2,5-3 Stunden. Die Agarschicht wird nach der Phorese quer zur Diffusionsrichtung in 0,5 cm breite Streifen zerteilt, deren Impulszahl einzeln im Bohrloch-Probenwechsler gemessen und in Diagrammen gegen die Wegstrecke aus dem Elektropherogramm aufgetragen werden.

Für die Serumelektrophoresen zur Beurteilung des in vivo-Verhaltens werden drei Serumproben eines Patienten nach 5,15 und 30 Minuten nach Injektion des ¹³¹J-Toluidinblau gewon-

⁺Human Albumin in salzarter Lösung (Rhodia Pharma)

⁺⁺Reinagar der Behringwerke, 1,8 % Lösung

nen. Beim ^{99m}Tc-B. nach 10, 20 und 30 Minuten. Die Trennung der Serumproteine erfolgt auf 12 cm langen, agarbeschichteten Platten unter gleichen Bedingungen wie für das in vitro inkubierte Albumin. Die Laufzeit beträgt drei Stunden. Zerteilung in 24 Streifen von 0,5 cm Breite und Messung erfolgt wie oben beschrieben. Die Impulszahlen der einzelnen Streifen werden in Prozent der Gesamtpulse aller 24 Streifen des Elektropherogrammes umgerechnet und gegen die Wegstrecke in einem Diagramm aufgetragen. Diese Umrechnung ermöglicht die Aktivitätsprofile der verschiedenen Elektropherogramme zu vergleichen, unabhängig von den absoluten Impulszahlen, die durch die Menge der zur Untersuchung applizierten Substanz und durch die verstrichene Zeit bis zur Messung bedingt sind.

B. In vitro-Bindung an Albumin

1. Elektrophorese nach in vitro-Inkubation mit ¹³¹J-Toluidinblau

Für die in vitro-Inkubation werden die Konzentrationen von Albumin und ¹³¹J-Toluidinblau variiert, für Albumin in einem Bereich von 1-200 mg/ml, für ¹³¹J-Toluidinblau zwischen 2-34 mg/ml.

In getrockneten und gefärbten Elektropherogrammen, die in gleicher Weise wie die zur Zerteilung und Messung bestimmten Elektropherogramme angefertigt werden, liegt das angefärbte Albumin anodenseitig.

Wird nur ¹³¹J-Toluidinblau bei der Elektrophorese verwendet, kommt es im Aktivitätsprofil dieses Elektropherogrammes zu einer nur kathodenseitigen Aktivitätsanhäufung in der

unmittelbaren Höhe der Auftragsstelle. Eine kleine Aktivitätsmenge findet sich auch am anodenseitigen Rand der Auftragsstelle, bedingt durch das ausgestanzte querovale Loch in der Agarschicht, über das hinweg die Diffusion kathodenwärts erschwert ist.

Im Vergleich dazu ergibt das Aktivitätsprofil über den Elektrophogrammen des mit ^{131}J -Toluidinblau inkubierten Albumin zwei durch die Auftragsstelle getrennte, gut voneinander abzugrenzende Impulshäufungen. Das Maximum des einen Aktivitätsgipfels fällt mit der färberisch darstellbaren Albuminfraktion zusammen und entspricht so dem an das Albumin gebundenen Teil des Farbstoffes. Die andere kathodenseitig der Auftragsstelle liegende Aktivitätshäufung entspricht freiem, nicht gebundenen ^{131}J -Toluidinblau (Abb. 13).

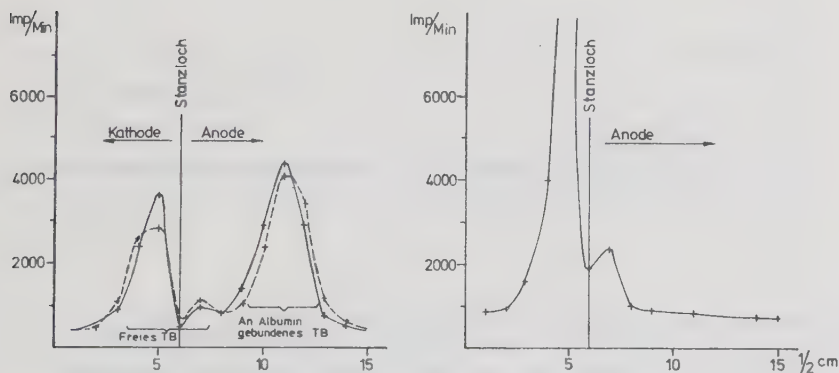


Abb. 13: Linkes Diagramm: Aktivitätsprofile zweier Elektrophoresen von in vitro mit ^{131}J -Toluidinblau inkubiertem Albumin.

Für beide Elektrophoresen wurde derselbe Ansatz inkubierten Albumins verwendet.

Rechtes Diagramm: Aktivitätsprofil von elektrophoretisch allein diffundiertem ^{131}J -Toluidinblau.

Diese eindeutige Unterscheidungsmöglichkeit zwischen gebundenem und ungebundenem ^{131}J -Toluidinblau ermöglicht das in vitro-Bindungsverhalten bei unterschiedlichen Konzentrationen der beiden Reaktionsparameter näher zu untersuchen. Wird bei gleichbleibender Albuminkonzentration (2 mg/ml) mit zunehmenden Mengen ^{131}J -Toluidinblau inkubiert, so bindet das Albumin zunehmend mehr Farbstoff (Abb. 14).

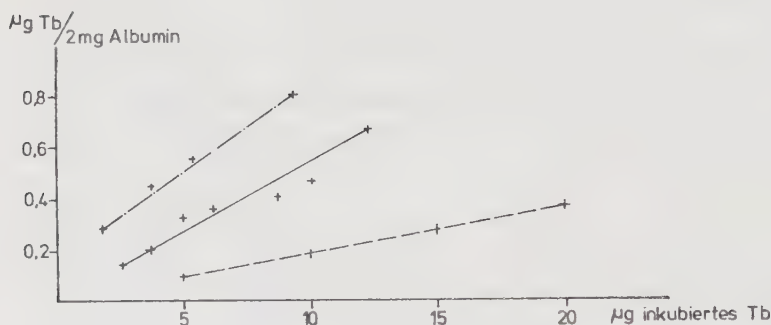


Abb. 14: Relation des an Albumin gebundenen zum zugesetzten ^{131}J -Toluidinblau bei der in vitro-Inkubation.

Freies und gebundenes ^{131}J -Toluidinblau stehen in der Albuminlösung zueinander in einer festen Beziehung. Je mehr ^{131}J -Toluidinblau zur Inkubation zugesetzt wird, desto mehr wird an Albumin gebunden und desto mehr liegt auch ungebunden im Inkubationsansatz vor. Es besteht demzufolge ein Gleichgewichtszustand zwischen gebundenem und ungebundenem ^{131}J -Toluidinblau, der durch die Menge des inkubierten ^{131}J -Toluidinblau vorgegeben wird (Abb. 15).

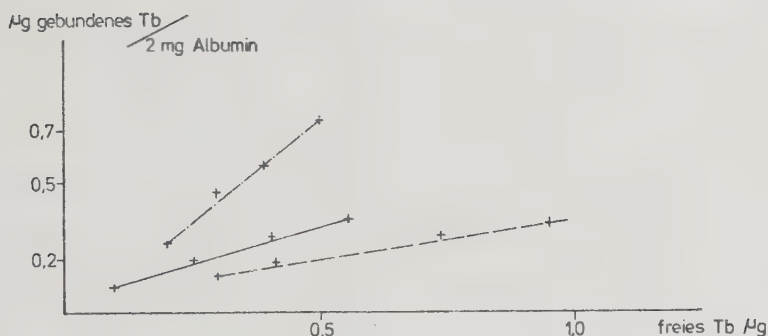


Abb. 15: Verhältnis zwischen gebundenem und freiem ^{131}J -Toluidinblau bei der in vitro-Inkubation.

Wird die Albuminkonzentration bei der in vitro-Inkubation variiert, die ^{131}J -Toluidinblau menge aber konstant gehalten, so vermögen höhere Albuminkonzentrationen auch mehr ^{131}J -Toluidinblau zu binden. Die pro Milligramm Albumin gebundene Farbstoffmenge verringert sich jedoch. Hohe Albuminkonzentrationen haben ein geringeres Bindungsvermögen (Abb.16) pro Masseneinheit. Die Aussagen zur Albuminbindung stützen sich auf etwa 30 Elektrophoresen von mit ^{131}J -Toluidinblau inkubierten Albuminlösungen.

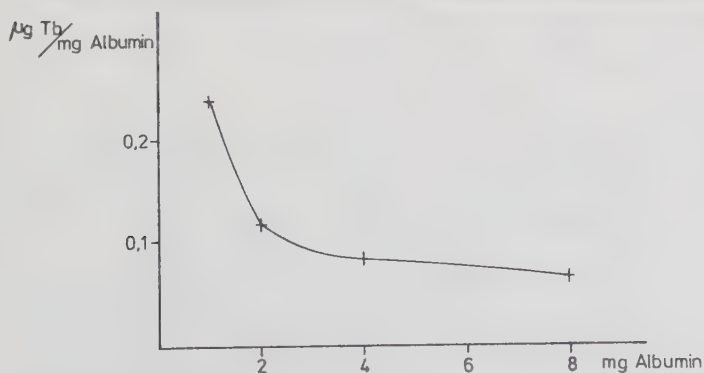


Abb. 16: ^{131}J -Toluidinblaubindungsvermögen unterschiedlicher Albuminkonzentrationen.

2. Elektrophorese nach in vitro-Inkubation mit ^{99m}Tc -Bida

Bida wird zur Untersuchung am Patienten stets frisch markiert. Dabei hängt die zugesetzte Menge ^{99m}Tc -Pertechne-tatlösung von der Aktivität des Eluates ab (1-20 mCi/ml). Aufgrund der geringen Toxizität und der großen pharmakologischen Breite des Bida besteht keine Notwendigkeit, Substanz und Aktivität bei der Markierung streng zu korrelieren. Zur in vitro-Inkubation wird daher auch das ^{99m}Tc -B. nicht nach Substanzmengen dosiert, sondern an der Aktivität ausgerichtet, die in Serumproben von mit ^{99m}Tc -B. untersuchten Patienten gemessen wurden. Das Albumin wird in physiologischer Konzentration zur Inkubation gebracht.

Die Auswertung erbringt ein eingipfliges Aktivitätsprofil, dessen Maximum in Richtung zur Anode liegt und mit der Albuminfraktion der gefärbten Kontroll-Elektropherogramme zusammenfällt. Als Schwierigkeit ergibt sich hier, daß ^{99m}Tc -B., wenn es allein der Elektrophorese unterworfen wird, ebenfalls in Richtung Anode wandert. So ist eine eindeutige Differenzierung zwischen gebunden und ungebunden nicht gegeben, wie dies beim ^{131}J -Toluidinblau durch die unterschiedliche Diffusionsrichtung möglich ist.

Drei Punkte sprechen für eine Albuminbindung des ^{99m}Tc -B.:

- a. Das präzise Zusammentreffen zwischen dem Aktivitätsmaximum und der färberisch nachweisbaren Albuminfraktion.
 - b. Der isolierte schmalbasige Peak im Aktivitätsprofil.
- Es findet sich keine weitere Häufung der Aktivität, noch läßt die scharfe Begrenztheit des Peaks auf zwei in einem Peak verschmolzene Fraktionen schließen.

c. ^{99m}Tc -B. wandert bei der Elektrophorese erheblich schneller als das Eiweiß Albumin. Es kommt bei gleichen Elektrophoresezeiten im letzten anodenseitigen Agarstreifen zu liegen, bzw. es tritt bereits durch das anliegende Filterpapier in die Elektrolytlösung über.

Weiter spricht für die weitgehend komplette in vitro-Albuminbindung, daß selbst bei Inkubation mit ^{99m}Tc -B.-Mengen, die die dreifache Impulsrate erzielen, als bei der Serumelektrophorese von mit ^{99m}Tc -B. untersuchten Patienten über der Albuminfraktion nachgewiesen werden können, kein zweites Maximum oder eine Verbreiterung des Albumin-Peaks im Aktivitätsprofil erzielt wird, was für zusätzliches, freies, ungebundenes ^{99m}Tc -B. spräche (Abb. 17).

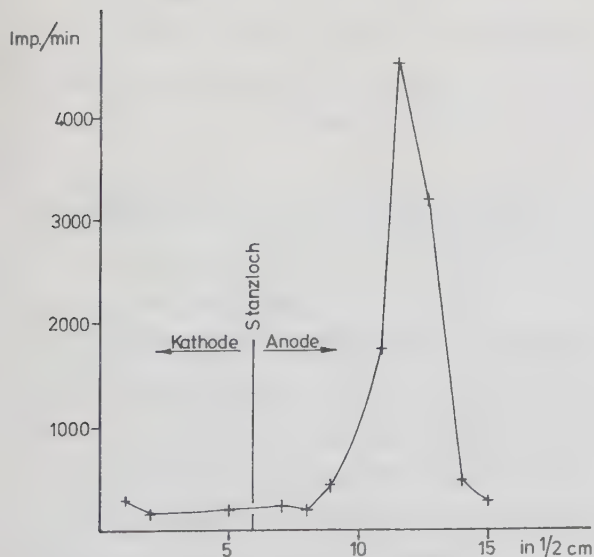


Abb. 17: Aktivitätsprofil einer Elektrophorese von Albuminlösung nach der Inkubation mit ^{99m}Tc -Bida.

C. Serumelektrophoresen zum in vivo-Bindungsverhalten

Die Gesamtaktivität der Serumproben von untersuchten Patienten nimmt mit der Zeit nach der Injektion steil ab, entsprechend der raschen Clearance durch die Leber (und eventuell der Nieren). Die frühen Serumproben, abgenommen nach 3-10 Minuten, haben eine größere Gesamtaktivität als die nach 30 Minuten gegen Ende der Untersuchung gewonnenen Proben.

Durch die Aktivitätsprofile der Serumelektrophoresen kann zwar keinem einzelnen der 24 Streifen ein bestimmtes Protein und damit ein bestimmtes Bindungsverhalten für die injizierte Substanz zugeordnet werden, jedoch lassen sich Aktivitätshäufungen an umschriebener Stelle bestimmten Eiweißgruppen zuordnen. Am meisten wandert Präalbumin und Albumin in Richtung Anode.

Die Maxima der Aktivitätsprofile der Seren zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion kommen zum einen Teil immer an der gleichen Stelle des Elektropherogrammes zu liegen, was für eine konstante Bindung an die zuzuordnenden Proteingruppen spricht. Andererseits können manche Aktivitätshäufungen an gleicher Stelle bei später abgenommenen Seren nicht mehr nachzuweisen sein. Die diesem Maximum entsprechende Proteingruppe hat demnach das Radiopharmakon aus der Bindung entlassen.

1. Die Elektrophoresen bei Patienten nach ^{131}J -Toluidinblau-Injektion.

Im Bereich der Auftragsstelle finden sich in den Aktivitätsprofilen nur geringe Impulswerte. Das ^{131}J -Toluidinblau, das allein bei der Elektrophorese nur geringfügig in Richtung Kathode wandert und nahe der Auftragsstelle liegen bleibt (vergl. in vitro-Bindung an Albumin), wäre hier, wenn es ungebunden vorläge, zu suchen.

Die anodenwärts wandernden Proteine binden im allgemeinen über 60 % der gesamten Aktivität. Kathodenwärts finden sich meist keine größeren Impulshäufungen, was durch die physiologische Funktion der hier hauptsächlich diffundierenden Proteine (Immunglobuline) zu erklären sein dürfte. Für die 3-Minuten-Seren zeigt sich am anodenseitigen Ende des Elektropherogrammes eine Impulshäufung mit etwa 25-30 % der Gesamtaktivität. Durch diese Lage kommt das Albumin bzw. das Präalbumin als Trägerprotein in Frage. In den späteren Seren ist an dieser Stelle keine Impulshäufung mehr zu messen, d.h. das Albumin ist nur in den ersten 15 Minuten für den Transport von Bedeutung.

In der anodenseitigen Hälfte der Elektropherogramme finden sich weitere Maxima, die hauptsächlich durch ihre Inkonzanz gekennzeichnet sind. Zum einen lassen sie sich nicht in zwei zeitlich verschiedenen Seren eines Patienten wiederfinden, zum anderen sind sie weder durch ihre Lage noch durch ihre Form in Aktivitätsprofilen anderer Patienten zu erkennen. Mit dieser Methode allein ist hier keine weitere Aussage zu treffen (Abb. 18).

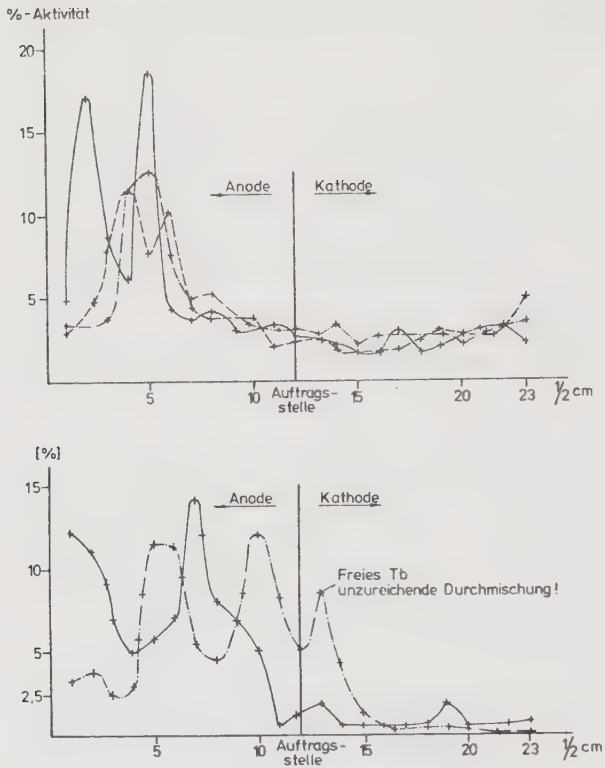


Abb. 18: Aktivitätsprofile von Serumelektrophoresen von mit ^{131}J -Toluidinblau untersuchten Patienten. Gewinnung des Serums nach 3 Minuten: —, 15: - · - · - und 30 Minuten: - + - + - . Die Aktivitätshäufung um die Auftragsstelle im zweiten Diagramm beim 3-Minutenserum dürfte auf eine noch unzureichende Durchmischung und Bindung im Blut zurückzuführen sein.

2. Die Elektrophoresen bei Patienten nach $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -B.-Injektion

Die Aktivitätsprofile der mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -B. untersuchten 10 Patienten zeigen trotz unterschiedlicher Vorerkrankungen ein relativ ein-

heitlicheres Verhalten als das beim ^{131}J -Toluidinblau der Fall ist. Es findet sich, etwas schematisiert beschrieben, eine Zunahme der Aktivität von der Auftragsstelle gegen den anodenseitigen Rand des Elektropherogrammes. In der zweiten Hälfte dieser Strecke erfolgt eine Aktivitätshäufung in Form eines ausgeprägten Peaks (über 75 % der Gesamtimpulse). Dieses Maximum verschiebt sich in den späteren Seren, die nach 20 und 30 Minuten p.i. vom Patienten abgenommen wurden, auf die Auftragsstelle hin. Dabei flacht sich die Spitze ab. Dieser Befund erlaubt auch hier dem Albumin, die anodenseitige Aktivitätshäufung zuzuordnen. Es ist im ersten Teil der Untersuchung das wichtigste Transportmedium, später kommen andere Proteine zum Tragen.

Freies $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -B. ohne jedes Trägereiweiß, elektrophoretisch in der gleichen Weise aufgearbeitet, liegt ausschließlich in einem Streifen von 1 cm Breite, der 5,5 cm anodenseitig der Auftragsstelle zu liegen kommt. Die Aktivitätshäufung, die dem Albumin zuzuschreiben ist, hat ihr Maximum im Schnitt 4 cm vom Stanzloch anodenseitig. Das schließt also aus, daß es sich bei letzteren um ungebundenes $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -B. handelt. Freies $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -B. zeigt dazu bei der Elektrophorese manchmal ein unregelmäßiges Fließverhalten, indem es unter gleichen Bedingungen schneller fließt. Meistens benötigt es erheblich geringere Fließzeiten für die gleiche Strecke wie Serum.

Mit der Verlagerung des Maximums zur Mitte bei den späteren Seren deutet sich offensichtlich eine Verschiebung der Bindungsverhältnisse zugunsten anderer Proteingruppen an. Da-

bei muß die Frage offen bleiben, ob diese Serumeiweiße das Radiopharmakon schlechter wieder abgeben, oder ob entstehende ^{99m}Tc -Bida-Derivate eine größere Bindungsaffinität haben (Abb. 19).

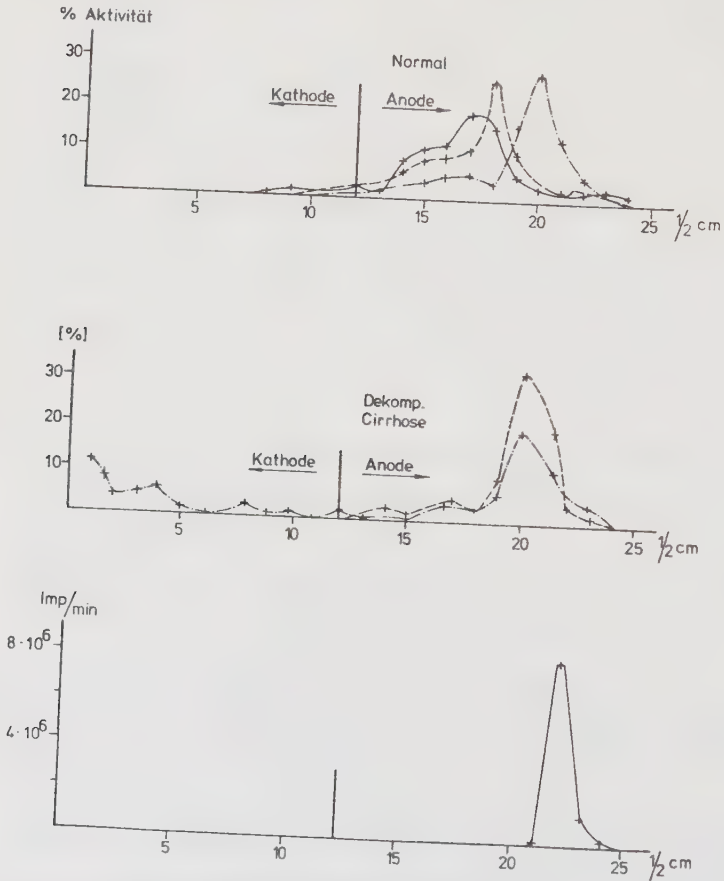


Abb. 19: Aktivitätsprofile von Elektropherogrammen. 1 und 2 von mit ^{99m}Tc -Bida untersuchten Patienten, 3 ein Elektrophorese von ^{99m}Tc -Bida allein. Serum nach 10: — · — · — , 20 — — — und 30 Minuten: — — — .

Zusammenfassung:

Die Serumelektrophorese erlaubt die dominierende Rolle des Albumins für beide Substanzen innerhalb der ersten 15 Minuten aufzuzeigen. Die übrigen Serumproteine, besonders die anodenseitigen, werden für den Transport in den späteren Phasen wichtig. Eine weitere Aussage über diese Eiweißgruppen zu treffen, gestaltet sich schwierig. Wichtig ist noch, daß ^{131}J -Toluidinblau und $^{99\text{m}}\text{Tc-B}$ stets an einen Träger gekoppelt sind. In ungebundener Form kommen die polygonalzellpflichtigen Radiopharmaka im Serum nicht vor.

IV. Sequenzszintigraphische und kinetische Beobachtungen am Patienten

A. Methodik

Die Untersuchungen mit ^{131}J -Toluidinblau und $^{99\text{m}}\text{Tc-B.}$ erfolgten an Patienten, von denen die einschlägigen differenzierten internistischen Vergleichsbefunde vorlagen. Diese klinischen Untersuchungen sind hier nur exemplarisch anzusprechen, im einzelnen wird für das ^{131}J -Toluidin auf die Arbeiten von SZILVASI (47), EICKENBUSCH (17, 18) und CZERNIAK (14, 16) und für das $^{99\text{m}}\text{Tc-B.}$ auf die Veröffentlichungen von WOLF (58) und LOBERG (22, 30) u.a. verwiesen.

Für die szintigraphische Untersuchung wird beim ^{131}J -Toluidinblau von einer Dosis von $2\text{--}3 \times 10^{-6}$ Ci/kg Körpergewicht ausgegangen. Für die spezifische Aktivität von 1 mCi wird im Durchschnitt weniger als 1 mg Farbstoff zur Markierung benötigt. Die tödliche toxische Dosis liegt bei 10 mg/kg.

Zur Untersuchung mit $^{99\text{m}}\text{Tc-B.}$ wurden $30\text{--}70 \times 10^{-6}$ Ci/kg benötigt. Die im allgemeinen applizierte Dosis liegt bei 2-5 mCi, das entspricht einer Substanzmenge von 0,5 mg/kg Körpergewicht. Die LD 50 liegt bei 280 mg/kg bei i.v.-Injektion. Beide Substanzen zeichnen sich so durch ihre große therapeutische Breite aus.

Am Ganzkörperfunktionsmeßplatz (verfügbares Gerät: Nucleopan M⁺) erfolgte für beide Testsubstanzen eine Registrierung

der Ganzkörper-Retentionskurve zur Bestimmung der Clearance durch synchrone Registrierung der kranialen und kaudalen Teilkörperaktivität. Leber, Dünndarm und Blase werden hierbei durch Bleiplatten abgeschirmt und durch kollimierte Einzeldetektoren ~~an~~ gemessen (35, 48).

Die Kamerafunktionsszintigraphie erfaßt durch einen divergierenden Kollimator die Mittel-/Oberbauchregion des Patienten bei anterior-posteriorer Position. Im Anschluß an die i.v.-Injektion der Substanzen erfolgt die Datenerfassung über 40 Minuten sowohl als analoge Polaroidbilder in etwa 5 Minuten-Abständen, als auch die Speicherung auf der Magnetplatte eines Oneline-Rechners in 30 Sekunden-Intervallen, für das ^{131}J -Toluidinblau in 1 Minuten-Intervallen. Bei verlängerter Untersuchungsdauer wegen mangelhafter Leberfunktion und Exkretion werden zusätzliche Einzeleinstellungen bis 24 Stunden nach der Injektion vorgenommen. Durch Lichtgriffel erfolgt die Festlegung der region of interest am Computeroszilloskop (64 x 64 Matrix) zur Gewinnung von Zeitaktivitätskurven über dem Herzen/basalen Lungenabschnitten, der Leber einmal als ganzem Organ und zum anderen aufgeteilt in zentrale und periphere Region, der Gallenblase, des Ductus Choledochus und des Dünndarmes. Die Aufzeichnung geschieht mit einem Schnelldrucker in 30 Sekunden Rasterung.

Unter Zugrundelegung des von Oberhausen entwickelten Ansatzes:

$Cl = -A(t) / c(t)$ (ml/min) ermittelt sich die Clearance bei der Substanzen aus den Blut- und Plasmakonzentrationen $c(t)$, abgenommen nach 5-15 und 25 Minuten p.i., und der pulmonal-präcordial gemessenen Aktivitätsänderung $A(t)$ (35,58) bzw. der nicht durch Bleiplatten abgeschirmten Regionen am Ganzkörperfunktionsmeßplatz.

B. Untersuchungen mit ^{131}J -Toluidinblau

Die Leber bildet sich normalerweise bis spätestens 10 Min. p.i. auf dem Bildschirm der Szintillationskamera ab. Innerhalb der ersten 10 Minuten kommt es zu einer Verschiebung der Aktivität im Leberparenchym nach medial-kaudal. Nach der 15. Minute ist die Gallenblase abzugrenzen. Die Hauptgallengänge kommen bei nicht pathologischen Zuständen dabei nur angedeutet zur Darstellung. Besteht jedoch ein Abflußhindernis in Form eines Verschlusses oder einer anderen Beeinträchtigung der Gallenwege, so kommt es durch den Aufstau zu einer Aktivitätsanreicherung. Das führt zu einer Abbildung des Choledochus bis zum Stop. Eine topographische Zuordnung ermöglicht die simultane $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sulfurkolloid-Szintigraphie (Dual-Isotope in zwei verschiedenen Gamma-Energiebereichen). Dieses markierte Kolloid wird nicht durch die Polygonalzellen in die Galle ausgeschieden, sondern im RES der Kupfer'schen Sternzellen angereichert.

Durch das $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sulfurkolloid stellt sich das Leberparenchym dar, von dem die ableitenden Gallenwege durch die Ausscheidung des ^{131}J -Toluidinblau unterschieden werden können.

Das ^{131}J -Toluidinblau beansprucht innerhalb der ersten 15-20 Minuten p.i. ein Verteilungsvolumen von 50 % des Körpergewichts. Das ist mehr als der intravasale und extrazelluläre Raum zusammen. Die Plasmaaktivität läßt ein Volumen von 30-35 l, die des Vollblutes von 40-50 l abschätzen. Ab der 2. Minute p.i. kann zudem eine Aktivitätsanreicherung in den Erythrozyten gemessen werden.

Die Halbwertszeit für ^{131}J -Toluidinblau liegt bei 43 und 150 Minuten im Vollblut und im Serum. Der Aktivitätsabfall vollzieht sich für Serum und Vollblut nahezu gleichartig ab der 20. Minute p.i.. Während der ersten 20 Minuten ist Durchmischung und Initialeinstrom nicht voneinander abzugrenzen. Die am teilabgeschirmten Ganzkörperfunktionsmeßplatz ermittelten Werte dagegen ergeben einen fast linearen, sehr flachexponentiellen Abfall von 0,1-0,5 % der Dosis pro Minute beim Lebergesunden. Für die präcordial registrierte Halbwertszeit ergibt sich ein Mittelwert von 144 ± 34 Minuten. Ein signifikanter Unterschied zwischen leberkranken und gesunden Patienten zeichnet sich nicht ab (47).

Die Funktionsszintigraphie zeigt für die Leber kurzfristig ein Maximum von 120 % des initialen Einstroms, durchschnittlich $7,6 \pm 1,8$ Minuten p.i.. Der darauffolgende Abfall unterschreitet bereits nach $19,3 \pm 4$ Minuten p.i. den Initialwert. Dieses Ergebnis findet sich unabhängig vom Bilirubinspiegel (47).

C. Untersuchungen mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -B. erfährt eine sehr schnelle Raffung durch die Leber, die sich bereits 3 Minuten p.i. gut darstellt. Die extrahepatischen Gallengänge einschließlich der Gallenblase kommen nach 15 bis 25 Minuten zur Abbildung. Störungen des biliären Abflusses, Funktionsminderung der ableitenden Gallenwege (z.B. Cholangitis), extrahepatischer Verschuß und Ausfall

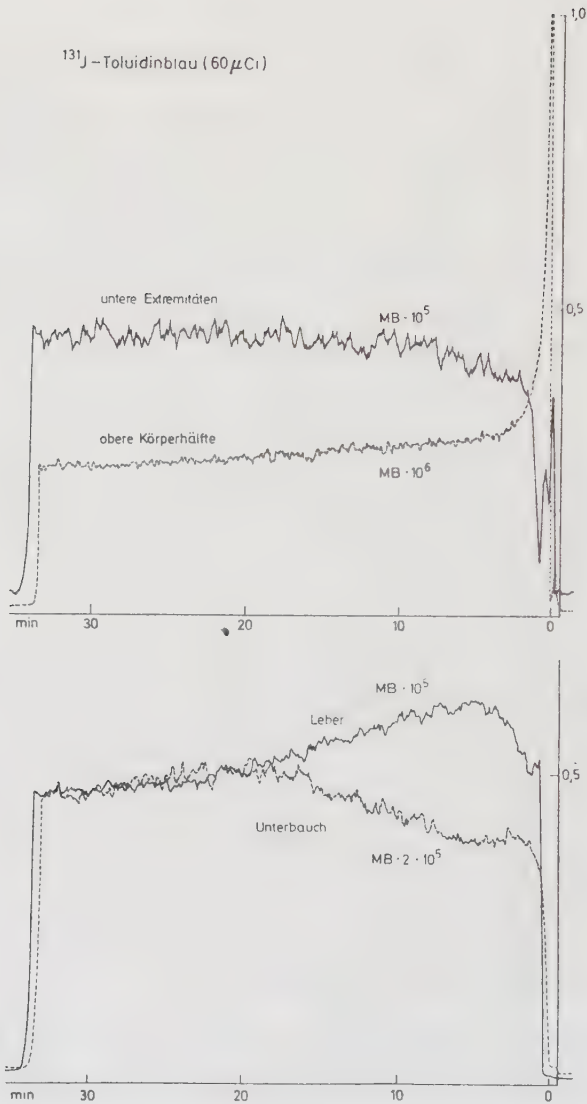


Abb. 20: Registrierung der Teilkörperaktivität am Ganzkörperfunktionsmeßplatz bei Untersuchung mit ^{131}J -Toluidinblau.

- a. Untere Extremitäten und obere Körperhälfte
- b. Organaktivität der Leber und des Unterbauches.

oder Minderung der Gallenblasenfunktion zeigen sich auf den entsprechenden Szintiphotos als verspätete oder verminder-
te Füllung.

Spätaufnahmen zeigen eine Aktivitätsanreicherung im Dün-
darm und nach 24 Stunden im Colon. Die Spätszintigramme
erlauben bei ausbleibender oder mangelnder Darmausscheidung
auch den Schweregrad des Verschlusses zu beurteilen.

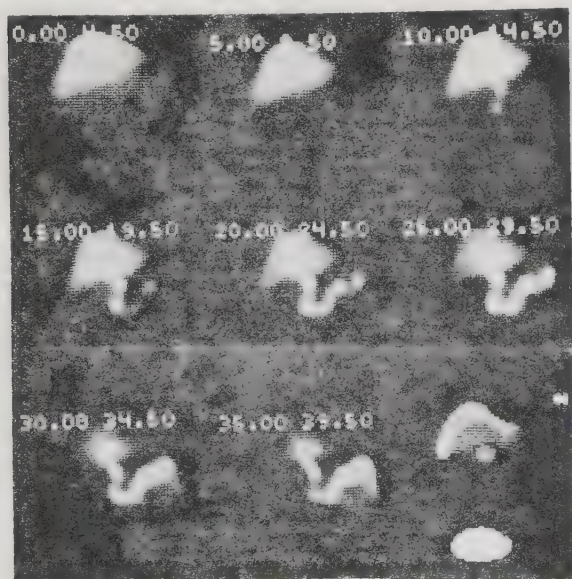


Abb. 21: Dynamische Szintillationskamera-Untersuchung des
hepatobiliären Durchsatzes von ^{99m}Tc -Bida inner-
halb der ersten 10 Minuten nach Injektion der
Substanz. Kondensierte 5 Minuten-Computerszinti-
gramme: bis zur 10. Minute unauffällige Parenchym-
raffung, danach zunehmende Darstellung des Dün-
ndarmes bei weitgehender Entspeicherung der Leber.
patient ist cholezystektomiert.

Aus der präcordial gemessenen, abfallenden Impulskurve errechnet sich für Normalpersonen eine Blutclearance von etwa 650 ± 205 ml/min um die 10. Minute und von 420 ± 240 ml/min um die 30. Minute. Die blutig gemessene Plasmaclearance fällt mit 420 ± 180 bzw. 250 ± 50 ml/min nach 30 Minuten um ca. ein Drittel niedriger aus. Eine gute Korrelation herrscht zwischen den am Ganzkörperfunktionsmeßplatz ermittelten Werten und den obigen aus der Gamma-Kamera-Untersuchung errechneten. Vor der 10. Minute p.i. sind die Clearancemessungen am abgeschirmten Funktionsmeßplatz um 15 % geringer. Beide Verfahren erbringen einen Clearancewert von durchschnittlich 35 % bei 30 Minuten gegenüber dem 10 Minuten-Wert (beim Lebergesunden) (58).

Die Aktivitätszeitkurven der Funktionsszintigraphie über der Leber zeigen für normal nach 9 bis 13 Minuten p.i. eine maximale Raffung an. Sie beträgt etwa $60 \% \pm 6 \%$ der gesamten in der Untersuchungsregion mit der Gamma-Kamera erfaßten Aktivität. Der Abfall der Kurve erfolgt zuerst exponential, später linear genähert. Nach 17 bis 25 Minuten p.i. ist noch die Hälfte der Aktivität des Kurvenmaximums vorhanden, die erste Halbwertszeit erreicht.

Die peripheren, oberflächennahen Anteile der Leber zeigen gegenüber der zentralen Region eine schnellere Raffung, erreichen so 4 Minuten eher das Maximum und haben einen rascheren Durchsatz, wofür eine etwas kürzere Halbwertszeit steht. In der 12.-17. Minute erscheint die Gallenblase, und entsprechend ihrer Reservoirfunktion sind durchschnittlich 20-50 % der Aktivität des gesamten Untersuchungsfeldes in

ihr lokalisiert. Im Intestinum ist bereits ab der 7. Minute p.i. Aktivität nachzuweisen.

Die Funktionsszintigraphie ermöglicht die Differenzierung zwischen einer gestörten Elimination des ^{99m}Tc -Bida aus dem Blut und einer beeinträchtigten Leberexkretion. Ausdruck der gestörten und verminderten Elimination aus dem Blut ist die mit der abnehmenden Leistung der Polygonalzellen herabgesetzte Clearance.

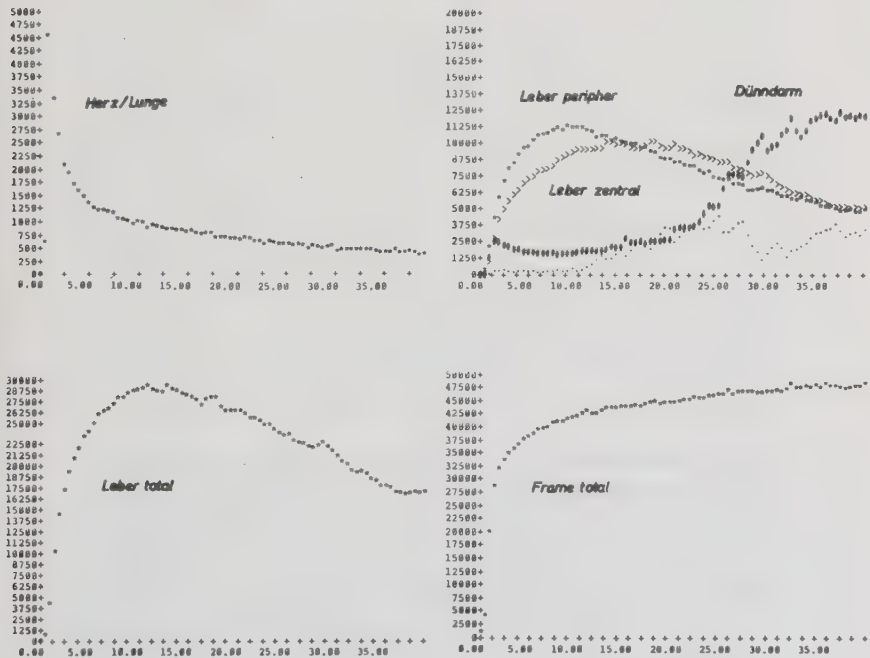


Abb. 22: Zeitaktivitätskurven nach ^{99m}Tc -Bida-Injektion (gewonnen durch ROI-Technik) über Herz/Lunge, Leber als ganzem Organ und aufgeteilt in periphere und zentrale Regionen sowie über dem Dünndarm und dem Gesamtuntersuchungsfeld.

V. Diskussion

Die Exkretion der gallenpflichtigen Radiopharmaka als exogene Substanzen durch die Polygonalzellen der Leber ist von verschiedenen molekularstrukturellen Voraussetzungen abhängig:

- a) Molekulargewicht: begünstigt werden vor allem Stoffe, deren Molekulargewicht über 300 liegt. Zum Vergleich: Bilirubin hat ein Molekulargewicht von 584. Eine Obergrenze ist schwieriger zu bestimmen und liegt für verschiedene Verbindungen zwischen 1000 und 5000.
- b) Polare Gruppen: von großem Einfluß sind lipophil- und hydrophile Anteile, die dem Molekül bei physiologischem pH eine gute Löslichkeit erlauben. Insbesondere erweisen sich eine Carboxylgruppe, ein Säurerest oder ein quartäres Amin von hohem Wert.
- c) Struktureigenschaften: hier ist besonders der Abstand zwischen den polaren Gruppen zu erwähnen. Ist die Distanz voneinander zu gering, so vermag das die Exkretion über die Leber in die Galle zu beeinträchtigen, ja zu verhindern. Zyklische Strukturen werden bevorzugt durch das hepatobiliäre System eliminiert. Die größte Durchsatzrate zeigen dabei Substanzen, deren Ringformen zueinander in verschiedenen Ebenen liegen (34).

Durch seine Ringstruktur, seine polaren Gruppen und sein Molekulargewicht erfüllt ^{131}J -Toluidinblau die Voraussetzungen für die Exkretion durch die Leber (14, 16, 34).

Der Transport zur Leber und die Einschleusung in die Polygonalzellen wird vor allem durch die Bindung an Serumeiweiße bewirkt. Zum einen verhindert die Proteinbindung eine rasche Filtration durch die Glomerula der Niere, zum anderen ermöglicht sie den Transport zu den Lebersinusoiden und damit die Aufnahme durch das Leberparenchym. ^{131}J -Toluidinblau vermag sich an Albumin und an weitere Serumeiweiße als Transportmedium zu binden.

Der rasche Durchsatz des ^{131}J -Toluidin durch die Polygonalzellen führt zu einer schnellen Darstellung der ableitenden Gallenwege. Die Leber selbst zeichnet sich zuvor für 5-10 Minuten deutlich ab. Das ermöglicht praktikable Untersuchungszeiten. Im Gegensatz dazu stehen markiertes Bengalrosa und Bromthalein, die eine Stunde und länger in der Leber verweilen können. Ebenfalls ist die Strahlenbelastung durch ^{131}J -Toluidinblau geringer zu veranschlagen als die des herkömmlichen Bengalrosa. Genau experimentelle Messungen stehen noch aus (47).

Die schnelle Ausscheidung in der Galle ist gegenüber den Röntgenkontrastmitteln ein großer Vorteil, da diese von den geschädigten Hepatozyten oft nur unzureichend zur Kontrastierung sezerniert werden. Beim ^{131}J -Toluidinblau genügt zumal auch ein Teil der injizierten Dosis zu einer ausreichenden Darstellung der ableitenden Gallenwege und Gallenblase. Im Gegensatz zu den Röntgenkontrastmitteln sind ^{131}J -Toluidinblau und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Blau nahezu risikolos.

Nachteilig für die Szintigraphie wirkt sich die relativ geringe Organselektivität aus und die Ausscheidung über die Nieren in den Urin. CZERNIAK ermittelte Werte von 28 % der injizierten Dosis (16). Durch die hohe Konzentrierung des markierten Farbstoffes in der Galle gegenüber dem Blut und dem Urin sind Gallenblase, ableitende Gallenwege und Leber ausreichend zu beurteilen. Die Überlagerung der Leber/Galle durch die Nieren mindert in pathologischen Fällen teilweise die diagnostische Verwertbarkeit, vor allem in den das Leberparenchym betreffenden Aussagen.

^{99m}Tc -Bida: Die Leberspezifität des ^{99m}Tc -Bida geht aus der Struktur des Moleküls hinreichend hervor: die beiden Säuregruppen bewirken eine gute Löslichkeit und sorgen für den partiell hydrophilen Charakter. Die weiteren Bedingungen der Gallenexkretion werden durch die beiden Stickstoffgruppen, die lipophile Ringstruktur, die ausreichende Polarität und die Molekülgröße erfüllt (30, 54).

Die Chromatographie des ^{99m}Tc -Bida zeigt, daß ^{99m}Tc nicht als Pertechnetatlösung nachzuweisen ist. Auch muß für ^{99m}Tc -Bida nur eine radiochemische Form angenommen werden (vergl. auch LOBERG, 22, 30). Diese Aussage gilt jedoch nur für einen Zeitraum von 2 Stunden nach der Markierung. Die Stabilität des Radiopharmakon darf für eine Zeitspanne von 15 Minuten bis 4 Stunden nach der Markierung vorausgesetzt werden. Zu einem späteren Zeitpunkt ist sie nicht zu gewährleisten. Die 15 Minuten nach dem Zusatz der ^{99m}Tc -Pertechnetatlösung für die Markierung sind unbedingt einzuhalten, da innerhalb dieser Zeit noch Markierungsinhomogenitäten nachge-

wiesen werden können. CHIOTELLIS veranschlagt für die komplette Markierungsreaktion sogar 30 Minuten (13).

Ein hervorstechendes Merkmal des $^{99m}\text{Tc-B.}$ ist seine rasche Exkretion, die zum einen sicher in der Struktur des Moleküls begründet ist, zum andern wird $^{99m}\text{Tc-B.}$ weder metabolisiert, noch unterliegt es einer intrahepatischen Konjugation, wie in Tierversuchen gezeigt werden konnte (30). $^{99m}\text{Tc-Bida}$ ist im Blut an Albumin und andere Serumeiweiße gebunden. In freier Form ist es nicht nachzuweisen. Wegen fehlender Belastung der Patienten ist es noch bei hohen Bilirubinspiegel mit guten Ergebnissen indiziert. Neben dem Szintigramm wird die Klär- und Ausscheidungsfunktion des hepatobiliären System beurteilbar (25). Insbesondere besteht für $^{99m}\text{Tc-B.}$ auch eine Indikation bei Bewertung therapeutischer Maßnahmen (58). Eine unzureichende Organraffung wird nur bei weitgehend pathologischer Parenchymumstrukturierung und einem Bilirubinspiegel über 15 mg% angetroffen.

Durch die Markierung mit dem Nuklid ^{99m}Tc Technetium ist das Bida von der Strahlenbelastung günstiger als das mit ^{131}Jod markierte Toluidinblau. Die Ganzkörperbelastung liegt etwa bei 0,019 Rad/mCi.

Eine breitere Anwendung des $^{99m}\text{Tc-B.}$ ist auch durch die Kombination mit der Ultraschall-Untersuchung gegeben. Insbesondere liegt hier der Schwerpunkt auf der Differentialdiagnose der obstruktiven Gallenwegserkrankungen, da hier die Schwierigkeiten der oft nur unzureichend darstellbaren Gallensteine umgangen wird (25, 38).

Bei der Funktionsszintigraphie mit $^{99m}\text{Tc-B.}$ ist die 20 Minuten-Retention im Blut im Gegensatz zu den herkömmlichen, jodmarkierten Radiopharmaka nicht zur quantitativen Bewertung der Leberfunktion geeignet. Die funktionelle Differenzierung zeigt durch die nach der Injektion erfolgende ungleichmäßige Durchmischung und die Eigenheiten der doppelten Blutversorgung der Leber eine ähnliche Auswertungs-Problematik wie verschiedene Typen des Isotopennephrogramms (58). Nach dem initialen Aktivitätseinstrom ist besonders die zweite Phase der Organraffung als der wichtigste Parameter der Parenchymfunktion zu sehen (22, 58).

Interessant ist auch die Möglichkeit, durch die regions of interest-Technik und die verfügbare Aktivität im Untersuchungsbereich an der Leber zentrale und periphere Anteile zu unterscheiden. Weitere Untersuchungen werden zeigen müssen, inwieweit die halbquantitativ bestimmte, zentralwärts gerichtete Aktivitätsverschiebung sich diagnostisch nützen läßt (58).

Keinen störenden Einfluß hat die oftmals hohe Urinausscheidung des $^{99m}\text{Tc-Bida}$, die bis zu 17 % der injizierten Dosis betragen kann, da sie bereits nach 5 Minuten ihr Maximum erreicht und von da an kontinuierlich abnimmt (13, 25).

VI. Zusammenfassung

Kenntnisse über chemische Eigenschaften, Qualitätsmerkmale wie Markierungsausbeute, Stabilität, Abbau und Verteilungsverhältnisse sind Voraussetzung für den gezielten und aussagefähigen Einsatz organpflichtiger Radiopharmazeutika.

In der vorliegenden Arbeit wurden chromatographische und elektrophoretische Untersuchungsreihen zur Prüfung der Substanzen ^{131}J -Toluidinblau und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sn-2,6 Diäthylacetanilidoiminodiacetat (= Bida) durchgeführt, sowie einige kinetische Parameter für das Verhalten dieser Verbindungen in vivo zusammengestellt.

^{131}J -Toluidinblau und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida stellen sich bei der chromatographischen Prüfung als einheitliche Substanzen dar. Der freie Anteil am Markierungsisotop ausserhalb des Hauptgipfels überschreitet die Nachweisbarkeitsgrenze nicht. Das aus vorgefertigten "kits" zu präparierende $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bida weist ab der 15. Minute bis zu ca. der 4. Stunde nach Präparation eine maximale Markierungsausbeute um 80 % auf, die Streuung zwischen verschiedenen Chargen ist tragbar.

Bei invitro-Ansätzen zeigt die Elektrophorese von ^{131}J -Toluidinblau eine mit zunehmender Albumin-Konzentration

abnehmende Eiweißbindung. In vivo finden sich bei unterschiedlichen Entnahmezeiten der Serumproben nach Injektion des Toluidinblaus mehrgipflig, hauptsächlich anodwärts wandernde Fraktionen im Aktivitätsprofil der Serum-elektrophoresen. Für ^{99m}Tc -Bida treten neben dem eingipfligen Maximum weitere Peaks auf, bestimmt offenbar durch die Bildung markierter Derivate mit zunehmender Zeit nach Injektion des Radiopharmazeutikums. Unterschiede bei Lebergesunden und Parenchymschäden sind zu vermuten, derzeit nicht zu sichern.

Zusammenfassende Daten über kinetische Größen, wie Verteilungsvolumen der Substanzen, Gesamtkörperclearance werden zusammengestellt, die praktischen Anwendungsmöglichkeiten diskutiert.

VII. Literaturverzeichnis

1. ALLEN, K., T.DELAND, F.H.DELAND: Dihydrotritic acid: a new polygonal cell imaging agent.
J.Nucl.Med. 15 (1974) 539
2. ANSARI, A.N., H.L.ATKINS, R.M.LAMBRECHT, C.S.REDWANLY, A.P.WOLF: 123 J-Indocyanine green (123 J-ICG) as an agent for dynamic studies of the Hepato-Biliary system.
In: "Dynamic Studies with Radioisotopes in Medicine"
Wien, IAEA 1975, Vol. I, 111
3. BAKER, R.J., J.C.BELLEN, P.M.RONAI: ^{99m}Tc -Pyridoxylidene-glutamate: A new rapid cholescintigraphic agent.
J.Nucl.Med. 15 (1974) 476 a
4. BIRSACK, H.J., M.THELEN, H.-P.BREUEL, C.WINKLER: ^{99m}Tc -Hepatobida zur Funktionsszintigraphie der Leber.
NUC compact 8 (1977) 6
5. BILLINGHURST, M.W.: Chromatographic quality control of ^{99m}Tc -labeled compounds.
J.Nucl.Med. 14 (1973) 793
6. BRIEN, T.G., V.KEAVENY: Jodinated Toluidine Blue: A potential agent for parathyroid scanning.
Int.J.Appl.Radiat.Isotop. 19 (1968) 820
7. BRITTON, K.E., R.SUWANIK, C.TUNTAWIROON, M.PREMOYDIN, A.REUBEN, K.NARASIMHA, M.MYERS, T.P.WOOD, N.J.G.BROWNS: Computer-assisted blood background subtraction (CABBS)
In: "Dynamic Studies with Radioisotopes in Medicine"
(Proc.Symp.Knoxville, 1974)
Wien, IAEA 1975, Vol. 2, 157
8. BUTTERMANN, G., I.WOLF, H.W.PABST, G.HÖR, P.E.SCHOLZE: Quantitative analysis of hepatograms using a gamma camera and labelled contrast media.
In: "Dynamic Studies with Radioisotopes in Medicine"
(Proc.Symp.Knoxville, 1974)
Wien, IAEA 1975, Vol. 1, 137
9. CALLERY, P.S., W.C.FAITH, M.D.LOBERG, A.T.FIELDS, E.B.HARVEY, M.D.BOOPE: Tissue distribution of ^{99m}Tc Technetium and Carbon-14 labelled N- (2,6-dimethylphenyl-carbamoylmethyl) imino-diacetic acid.
J.Med.Chem. 19 (1976) 962
10. CARR, E.A.jr., M.CARROLL, W.DI GUILIO, D.C.BLAIN: The use of Radio iodinated Toluidine Blue for myocardial scintigrams.
Amer.Heart J. 86 (1973) 621

11. CHIOTELLIS, E., G.SUBRAMANIAN, J.G. MC AFEE: Chemistry of labeling Schiff's base (pyridoxal aminoacid complex) with Tc 99m and their use hepatobiliary scintigraphy.
J.Nucl.Med. 16 (1975) 520
12. CHIOTELLIS, E.: Preparation of Tc-99m labeled Pyridoxal-amino acid complexes and their evaluation.
Int.J.Nucl.Med. and Biol. 4 (1977) 29
13. CHIOTELLIS, E., C.SAWA-DIMOPOULOU, C.KOUTOULIDIS, M.CONSTANTINIDES: 99m Tc-HIDA, a gallbladder imaging agent.
Eur.J.Nucl.Med. 3 (1978) 41
14. CZERNIAK, P., C.MISROCH, S.BORUCHOWSKY, M.MALCHI: A new method for cholezystoscintigraphy using RTB.
Proc.2rd.natn.Congr.Nucl.Med., Tel. Aviv, Israel 1970, 88
15. CZERNIAK, P., S.BORUCHOWSKY: Labelling of Toluidine Blue with radioactive iodine.
J.Labelled Compounds 7 (1971) 2
16. CZERNIAK, P., S.BORUCHOWSKY, A.YARSHOVA, M.MALCHI: Use of radioactive Toluidine Blue for Cholescintigraphy.
In: "Medical Radioisotope Scintigraphy"
Wien, IAEA 1979, Vol. 2, 75
17. EICKENBUSCH, W., A.STUTE, Th.CHEN: 131 J-Radio-Toluidine Blue: a new diagnostic agent for biliary function and gallbladder scanning.
Proc.I.World Congr.Nucl.Med., Tokyo: WFNMB, 1974, 459
18. EICKENBUSCH, W., R.KOKA, A.STUTE: 131 Jod-Radio-Toluidin-Blau zur Funktionsdiagnostik und Szintigraphie des Gallensystems.
Nucl.Med.Suppl. 12 (1975) 250
19. FIRNAU, G.: Why do Tc-99m chelats work for cholescintigraphy?
Eur.J.Nucl.Med. 1 (1976) 137
20. FLIEGEL, C.P., M.K.DEWANJEE, L.B.HOLMAN, M.D.MICHAEL, A.DAVIS, S.TREVES: 99m Tc-Tetracycline as a kidney and gallbladder imaging agent.
Radiology 110 (1974) 407
21. GORIS, M.L.: 123 J-Iodo-Bromsulphalein as a liver and biliary scanning agent.
J.Nucl.Med. 14 (1973) 820

22. HARVEY, E., M.LOBERG, M.COOPER: 99m Tc-HIDA: A new radio-pharmaceutical for hepato-biliary imaging.
J.Nucl.Med. 16 (1975) 533 d
23. HIROM, P., P.MILBURN, R.SMITH: Bile and urine as complementary pathways for the excretion of foreign organic compounds.
Xenobiotica 6 (1976) 55
24. JENNER, R., M.CLARKE, E.HOWARD: Liver and gall-bladder imaging with Technetium-99m Dihydrothiotic acid and Technetium-99m Pyridoxylidene glutamate - a study in the young pig.
Br.J.Radiol. 49 (1976) 852
25. JOSEPH, K., J.MAHLSTEDT, U.WELCKE, H.-H.PRIES: Hepatobiliäre Funktionsszintigraphie (HBFS) mit Hepatobida.
NUC compact 8 (1977) 20
26. KANG, G.S., W.DI GIULIO: Potential value of Toluidine Blue analogs as parathyroid scanning agent.
J.Nucl.Med. 9 (1968) 643
27. KROHN, K., A.JANSHOLT: Radiochemical quality control of short-lived radiopharmaceuticals.
Int.J.App.Radiat.Isot. 28 (1977) 213
28. LEDERER, M., H.MICHL, K.SCHLÖGEL, A.SIEGEL: Anorganische Chromatographie und Elektrophorese.
In: "Handbuch der mikrochemischen Methoden" Band III, Herausgeber: F.RECHT, K.ZACHERL, Wien 1961
29. LINDUP, W.: Drug-Albumin binding.
Biochem.Soc.Trans. 3 (1975) 635
30. LOBERG, M., M.COOPER, E.HARVEY: Development of new radio-pharmaceuticals based on N-substitution of imino-diacetic acid.
J.Nucl.Med. 17 (1976) 633
31. LUBIN, E., M.RACHIMA, V.OREN, J.WININGER, J.TRUMPER, I.KOZENITZKY, Y.RECHNIC: Technetium-99m-pyridoxyliden-glutamate in jaundiced patients.
In: "Medical radionuclide imaging" (Proc.Symp.Los Angeles 1976)
Wien, IAEA 1977, Vol. 2, 159
32. MATOIO, N., R.STADALNIK, E.WOLPMAN: Hepatobiliary scanning using 99m Tc-Pyridoxylideneglutamate.
Am.J.Surg. 133 (1977) 116

33. MILBURN, P.: Factors in the biliary excretion of organic compounds. In metabolic conjugation and metabolic hydrolysis.
Academic Press, New York, Vol. 2 (1970) .1
34. NIELSEN, P., F.RASMUSSEN: Relationships between molecular structure and excretion of drugs.
Life Sciences 17 (1975) 1495
35. OBERHAUSEN, E: Grundlagen der nuklearmedizinischen Clearancebestimmung.
In: "Nuklearmedizinische Verfahren bei Erkrankungen der Niere und ableitenden Harnwege"
Konstanz 1977
36. REIFFERS, S., R.M.LAMBRECHT, A.P.WOLF: Synthesis and structural effects of selective biliary excretion of halogenated Indotricarbocyanines.
J.Nucl.Med. 17 (1976) 529
37. RONAI, P.M., R.J.BAKER, J.C.BELLEN, P.J.COLLINS, H.LANDER: Technetium-99m-Pyridoxylideneglutamate: II.Clinical Aspects.
J.Nucl.Med. 16 (1975) 728
38. RYON, J., M.ISIKOFF, C.NAGLE, E.BUDDMEYER, M.LOBERG, M.COOPER: The combined use of Tc-99m HIDA and ultrasound in differential diagnosis of jaundice.
J.Nucl.Med. 17 (1976) 545
39. SAWAS-DIMOPOULOU, C., E.CHIOTELIS, N.PAPANICOLAOU, C.DASSIOU, G.PAPDIMITRIOU, A.HATZILOUKA-MANTAKA: Experimental and clinical comparison of two hepatobiliary agents. 99m Tc-Pyridoxal-Leucine and 131 J-Rose Bengal.
Athen, 1976
40. SERAFINI, A.N., W.M.SMOAK, H.B.HUPF, J.E.BEAVER, J.HOLDER, A.J.GILSON: Iodine-123-Rose Bengal: an improved hepatobiliary imaging agent.
J.Nucl.Med. 16 (1975) 629
41. SEWATKAR, A.B., O.P.D.NORONHA: Comparison of 99m Tc-labeled hepatobiliary agents 99m Tc-Pyridoxylidene glutamate (99m Tc-PG) and 99m Tc-Sn-Lidocaine Iminodiacetic (99m Tc-Sn-LIDA).
Nucl.Med. 15 (1976) 290
42. SOARANDES, T.: Technique for using 99m Tc-HIDA for gall-bladder function study.
J.Nucl.Med.Techn. 4 (1976) 99

43. SPARGANA, M., R.VEATCH, W.SUPAN, E.KAPLAN, E.PALOYAN:
Preoperative localization of an insulinoma by external
scanning with ¹³¹J-Toluidine Blue.
J.Nucl.Med. 15 (1974) 12

44. STADALNIK, R.C., N.M.MATOLO, K.A.KROHN, A.L.JANSHOLT,
G.L.DE NARDO: Scintigraphy of the biliary system using
^{99m}Tc-Pyridoxylideneglutamate (PG).
In: "Medical Radionuclide Imaging" (Proc.Symp.Los Angeles
1976)
Wien, IAEA 1977, Vol. 2, 163

45. SUBRAMANIAN, G., T.DEAVER, J.MC AFEE, R.HALL, L.HEMINGER,
P.VESICO: Comparitive evaluation of Tc-^{99m} labeled hepato-
biliary agents with J ¹³¹-Rose Bengal.
J.Nucl.Med. 16 (1975) 577

46. SUNDBERG, M.W., C.MEARLES, D.GOODWIN: Selective binding
of metal ions to macromolecules using bifunctional ana-
logs of EDTA.
J.Med.Chem. 17 (1974) 1304

47. SZILVASI, I., N.RUSS, E.KRÖNERT, F.WOLF: Erweiterung des
Spektrums polygonalzellpflichtiger Substanzen durch ¹³¹J-
Toluidinblau?
In: "Nuklearmedizin: Verhandlungsberichte der Internat.
Jahrestagung d. Ges. f. Nuklearmedizin"
Berlin 1978

48. TOKOCZ, H.J., E.OBERHAUSEN, B.GLÖBEL: Measurement of liver-
clearance rate with partially shielded whole body counter.
In: "Dynamic Studies with Radioisotopes" (Proc.Symp.
Rotterdam, 1970)
Wien, IAEA 1971, 409

49. TONKIN, A.K., F.H.DELAND: Dihydrothioctic Acid: A new
polygonal cell imaging agent.
J.Nucl.Med. 15 (1974) 539

50. TSUCHIDA, T., T.NAKAJIMA: Hepato-biliary scintigraphy with
new hepatobiliary scanning agent, ^{99m}Tc-MIBA.
Radioisotopes (Tokyo) 26 (1977) 112

51. VAN HEERTRUM, R.L., G.SUBRAMANIAN, F.D.THOMAS, J.G.MC AFEE,
R.C.HALL, L.HEMINGER, P.VESICIO: Comparative evaluation of
^{99m}Tc-labeled hepatobiliary agents with ¹³¹J-Rose Bengal.
J.Nucl.Med. 16 (1975) 577

52. VAN Rijk, P.P., C.N.DE GRAAF, C.J.A.VAN DER HAUSER: ¹³¹J-Asialo- 1-Acid Glycoprotein: A new pharmaceutical for dynamic liver function studies.
In: "Dynamic Studies with Radioisotopes in Medicine"
Wien, IAEA 1975, Vol. 1, 99
53. WILSON, B.J.: The radiochemical Manual.
Amersham 1966
54. WISTOW, G., G.SUBRAMANIAN, J.G.MC AFEE: An evaluation of ^{99m}Tc-labeled HIDA derivatives as hepatobiliary agents in experimental animals.
J.Nucl.Med. 17 (1976) 545
55. WOLF, F., R.PRÄG, E.KRÖNERT, R.KELLNER: Untersuchungen zur leberpflichtigen Kolloidentnahme und Versuche ihres qualitativ-kinetischen Auswertung mittels elektronischer Datenverarbeitung.
In: "Ergebnisse der klinischen Nuklearmedizin"
Hrsg. von W.HORST, Schattauer, Stuttgart 1971
56. WOLF, F.: Biokybernetik in der Gastroenterologie/Hepatologie - Grundlagen und Ergebnisse von Funktions- und Regulationsuntersuchungen.
Nucl.Med. 15 (1976) im Druck
57. WOLF, F.: Radioisotope in der Gastroenterologie/Hepatologie Rundtischgespräch, 10.Internationaler Kongreß für Gastroenterologie
Budapest 1976
58. WOLF, F., E.KRÖNERT, G.REGLER: Nuklearmedizinische Diagnostik der Leber und Gallenwege mit ^{99m}Tc-markierten Verbindungen - am Beispiel der Untersuchung mit Hepato BIDA.
Fortschr.Med. 96 (1978) 455
59. WOLF, F., E.KRÖNERT: Leber und Gallenwege.
In: "Handbuch der medizinischen Radiologie", Bd. XV: Nuklearmedizin - Klinik, Hrsg. von H.Hundeshagen u.a., Springer, Berlin 1978
60. YEH, S.H., J.E.DELAY, J.P.KRISS: ^{99m}Tc-labeled Toluidine Blue for liver scintillography
Int.J.Appl.Radiat.Isot. 19 (1968) 885
61. YUN RYO, U., D.C.MOSES, W.F.MILAM: Abnormal liver scans in patients with alpha 1-antitrypsin deficiency.
J.Nucl.Biol.Med. 18 (1974) 39
62. ZITA, G., H.UIBERHAK, J.CSIRIK, K.K.SCHWARZ: Liver studies with various radioactive tracers and methods.
In: "Dynamic Studies with Radioisotopes in Medicine"
Wien, IAEA 1975, 125

VIII. Anhang

Herrn Prof.Dr.med.F.Wolf danke ich für die freundliche Überlassung des Themas, seine großzügige Unterstützung, Beratung und richtungsweisenden Anregungen.

Weiter habe ich zu danken

Herrn Prof.Dr.Baenkler für seine beratende Unterstützung und für die Überlassung von Gerätschaften und Labormaterial zur Elektrophorese.

Herrn Akademischen Rat Dr.Klenk, Vorstand des Zentral-labors, für seine Hilfeleistungen und fachlichen Anregungen in den Fragen der Chromatographie.

Herrn Priv.Doziert.Dr.med.E.Krönert für seine Hilfe an den Geräten, im besonderen am Rechner des Institutes.

Lebenslauf

Name: Norbert Adam Russ

Geburtstag und -ort: 26.2.1953 in Bamberg

Konfession: röm.-katholisch

Eltern: Georg Russ, Oberstudiendirektor
Dr.Gabriele Russ, geb. Dees, Studien-
direktorin

Schulen: 1959 Eintritt in die Volksschule
1963 Übertritt in das Gymnasium
1972 Abitur am E.T.A.Hoffmann-Gymnasium
in Bamberg

Studium: 1972 Beginn des Studiums der Medizin
in Frankfurt am Main
1974 Physikum in Erlangen
1976 1.Teil der ärztlichen Prüfung
1978 2.Teil der ärztlichen Prüfung
1979 Im April/Mai 3.Teil der ärztlichen
Prüfung

